



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD SINALOA



PARASITISMO NATURAL Y EVALUACIÓN DE LA PERSISTENCIA
DEL NUCLEOPOLIÉDROVIRUS (SMNPV) DEL GUSANO
COGOLLERO *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) EN SUELOS DEL NORTE DE SINALOA

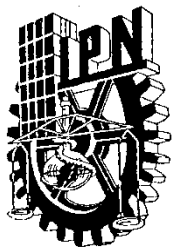
TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ

GUASAVE, SINALOA; MEXICO. DICIEMBRE DE 2019



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

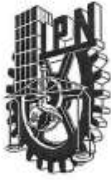
CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Guasave, Sinaloa el día 19 del mes septiembre del año 2019, el que suscribe Miguel Ángel López alumno del Programa de Doctorado en Ciencias en Biotecnología, con número de registro B150889, adscrito al CIIDIR Unidad Sinaloa, manifiesto ser el autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de los Doctores: Cesar Marcial Escobedo Bonilla y Ana Mabel Martínez Castillo, y cede los derechos del trabajo titulado “Parasitismo natural y evaluación de la persistencia del nucleopoliedrovirus (*SfMNPV*) del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) en suelos del norte de Sinaloa”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones winky_angel@hotmail.com; cesar_escobedomx@yahoo.com y amabel_66@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

López Miguel Ángel

Miguel Ángel López



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS
Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS*

Guasave, Sinaloa a 21 de octubre del 2019

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-SINALOA en su sesión ordinaria No. 10 celebrada el día 17 del mes de octubre conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

López

Miguel Ángel

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre (s)

Con registro:

B	1	5	0	8	8	9
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:
Parasitismo natural y evaluación de la persistencia del nucleopoliedrovirus (SfMNPV) del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) en suelos del norte de Sinaloa.

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:
Recolección intensiva de larvas silvestres de *Spodoptera frugiperda* para aislamiento de nucleopoliedrovirus y para cría masiva del gusano cogollero. Recolección y determinación de especies de parasitoides en campos de cultivos comerciales de maíz y maíz voluntario. Evaluación experimental de la persistencia de nucleopoliedrovirus en diferentes suelos agrícolas de Guasave, Sinaloa.


2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:
Al Dr. Cesar Marcial Escobedo Bonilla y a la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo.

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesina será elaborado por el alumno en:
el Laboratorio de Patología y Diagnóstico Molecular del Departamento de Acuicultura pertenecientes al CIIDIR Sinaloa.

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.


4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis


Dr. Cesar Marcial Escobedo
Bonilla

Aspirante


M.C. Miguel Ángel López

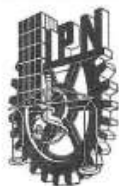

Dra. Ana Mabel Martínez Castillo

Presidente del Colegio


Dr. Héctor Manuel Esparza Leal



CIIDIR - IPN
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
Y POSGRADO



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Guasave, Sinaloa siendo las 10:00 horas del día 21 del mes de octubre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR SINALOA para examinar la tesis titulada:
Parasitismo natural y evaluación de la persistencia del nucleopoliedrovirus (SfMNPV) del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) en suelos del norte de Sinaloa.

Presentada por el alumno:

López Miguel Ángel
 Apellido paterno Apellido materno Nombre(s)
 Con registro:

B	1	5	0	8	8	9
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Doctorado en Ciencias en Biotecnología

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis


 Dr. César Marcial Escobedo Bonilla


 Dra. Ana Mabel Martínez Castillo


 Dr. Cipriano García Gutiérrez


 Dr. Sergio Medina Godoy


 Dr. Edgardo Cortez Mondaca

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


 Dr. Héctor Manuel Esparza Leal



CIIDIR - IPN
 UNIDAD SINALOA
 DIRECCIÓN

DEDICATORIA

A mis padres

Elvira (Q.E.P.D.), Miguel y Teresa, les dedico este trabajo por brindarme siempre su apoyo.

A mi esposa y mis dos hijas

Por ser el motivo de inspiración, este trabajo no lo realizaría sin la motivación de superarme para que se sientan orgullosas de mí, por tenerme paciencia en los momentos que no estuve con ustedes cuando le dedicaba tiempo al posgrado. Las amo mucho.

A mis hermanas

A Beatriz, Fernanda y Lupita (Q.E.P.D.), espero que estén complacidas con otro logro alcanzado.

A mis amigos

Todos mis amigos que influyeron directamente en mi formación como estudiante, a mis compañeros de generación y de laboratorio.

A mi familia

A todos los familiares que me apoyaron a terminar el posgrado, por apoyarme en las situaciones difíciles.

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por darme la capacidad para poder realizar este nuevo posgrado.

A mis directores:

Al Dr. Cesar Marcial Escobedo Bonilla por el gran tiempo dedicado a la presente tesis, por haberme aceptado por segunda vez como su alumno y brindarme su entera confianza. Por darme siempre su apoyo para la realización de este trabajo.

A la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo, por ser una gran persona y aceptarme como su alumno sin tener ninguna relación previa, por su confianza y su gran apoyo al proyecto de investigación, por su gran capacidad y asesoría. Muchas gracias.

A mis tutores:

Al Dr. Cipriano García Gutiérrez por su confianza, paciencia y el inmenso apoyo desde que entre en el laboratorio, por guiarme en el camino a seguirme superando. Al Dr. Sergio Medina Godoy, Dr. Edgardo Cortez Mondaca por siempre estar presentes en los tutoriales y por sus aportaciones tan valiosas para que se lograra con éxito este trabajo. Muchas gracias por sus buenos consejos.

A mis compañeros de laboratorio:

Héctor Leyva, muchas gracias gran amigo, un gran apoyo me brindaste. Eres parte importante del trabajo. A Luis Daniel García y Arturo Fierro, siempre dispuestos a apoyarme.

A los investigadores del CIIDIR- Unidad Sinaloa.

A todo el personal que labora en las instalaciones del CIIDIR-Sinaloa, agradeiendo de una manera muy especial a Nadia Vazquez y Margarita quienes me brindaron todo su apoyo.

Al Instituto Politécnico Nacional por brindarme la oportunidad de realizar mi proyecto de investigación en el CIIDIR- Unidad Sinaloa.

INDICE GENERAL

GLOSARIO.....	V
LISTA DE ACRÓNIMOS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE CUADROS	XIII
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN GENERAL	5
DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA TESIS.....	9
1. CAPITULO I: ANTECEDENTES	12
1.1 Aspectos generales del maíz	12
1.1.1. Producción y tecnología de cultivo	12
1.1.2. Morfología, crecimiento y desarrollo.....	12
1.1.3. Importancia.....	14
1.1.4. Usos	14
1.1.5. Problemas fitosanitarios	15
1.2. Plagas del maíz.....	15
1.2.1 Gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i>	16
1.2.1.1. Importancia.....	17
1.2.1.2. Distribución.....	17
1.2.1.3. Ciclo de vida y hábitos.....	17

1.2.2. Control químico de <i>S. frugiperda</i>	19
1.2.3. Control biológico de <i>S. frugiperda</i>	20
1.3. Depredadores.....	20
1.4. Parasitoides.....	21
1.4.1. Generalidades de parasitoides.....	21
1.4.2. Tipos de parasitoides	21
1.4.3. Mecanismos de parasitismo	22
1.4.4. Especies predominantes en México y Sinaloa	23
1.5. Hongos.....	25
1.6. Bacterias	25
1.7. Nemátodos	27
1.8. Baculovirus.....	27
1.8.1 Generalidades	28
1.8.2. Estructura y composición	29
1.8.2.1. Nucleocápsida.....	30
1.8.2.2. Envoltura o membrana	30
1.8.2.3. Viriones	30
1.8.2.4. Cuerpos de oclusión.....	30
1.8.2.5. Ciclo y sintomatología de infección viral.....	31
1.9. Generalidades de suelos agrícolas de maíz en Sinaloa.....	31
1.9.1 Factores fisicoquímicos de suelos agrícolas en maíz	32

1.9.1.1. Textura	32
1.9.1.2. Salinidad y pH	32
1.9.1.3. Materia orgánica.....	33
1.9.1.4. Relación de factores fisicoquímicos de suelos con persistencia viral..	33
1.9.2. Efecto del cambio climático sobre los factores ambientales.....	35
1.9.2.1. Relación de los factores ambientales sobre la persistencia viral.....	38
1. 10. Usos de los baculovirus.....	40
1.11. Literatura citada.....	43
CAPÍTULO II. Justificación, hipótesis y objetivos de la tesis	68
CAPÍTULO III. Parasitoids and Entomopathogens Associated with Fall Army- worm, <i>Spodoptera frugiperda</i> , in Northern Sinaloa	71
3.1. Abstract	71
3.2. Resumen	72
3.3. Introduction.....	73
3.4. Material and Methods	74
3.5. Results and Discussion	77
3.6. Conclusions.....	87
3.7. Acknowledgments	87
3.8. References	87
CAPÍTULO IV. Persistence of <i>Spodoptera frugiperda</i> nucleopoliedrovirus (SfMNPV) in different agricultural soil from Northern Sinaloa.....	97
4.1. Abstract	98

4.2. Introduction.....	99
4.3. Material and Methods	101
4.4. Results	105
4.5. Discussion.....	113
4.6. Conclusions.....	115
4.7. Acknowledgments	115
4.8. References	115
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN INTEGRADORA	123
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES ...	135
CURRICULUM VITAE	137

GLOSARIO

ADN: Acido desoxirribonucleico. Molécula compleja con dos cadenas complementarias que forman una doble hélice y contienen una secuencia de nucleótidos con información genética.

Adulto.- Estado de la vida en el cual el organismo adquiere la estructura definitiva que le corresponde específicamente.

Artrópodo.- Son animales invertebrados dotados de un esqueleto externo y apéndices articulados.

Axénico: Cultivo (microorganismos o animales) de laboratorio criados libres de patógenos específicos.

Bacteria: Microorganismo unicelular sin núcleo (procarionte), de tamaño entre 0.5 y 5 μm y de morfología diversa. Los cromosomas de las bacterias no presentan envoltura nuclear.

Baculoviridae: Familia de virus infectivos exclusivamente de insectos.

dNTPs: Son los nucleótidos fosfatados adenina, timina, citosina y guanina, que conforman al DNA.

Bioensayo: Proceso experimental mediante el cual se determina las características de una sustancia potencialmente tóxica o de un metabolito a través del estudio de sus efectos sobre organismos cuidadosamente escogidos y bajo condiciones específicas de laboratorio.

Ectoparasitoide.- Se refiere a los organismos parasitoides que se desarrollan fuera del hospedero.

Endoparasitoide.- Se refiere a los organismos parasitoides que se desarrollan dentro del hospedero.

Entomopatógenos.- Organismos que causan enfermedades en insectos.

Etapa fenológica: Son cada una de las fases de desarrollo de los organismos con relación a los factores climáticos.

Feromonas: Son sustancias químicas secretadas por los seres vivos con el fin de provocar comportamientos específicos en otros individuos tanto de la misma especie como en otras especies.

Flácida: Flojo, blando, sin consistencia.

Fotoperiodo: Es el tiempo diario que un organismo se expone a la luz.

Hectárea (Ha.): Medida de superficie equivalente a 10,000 m².

Holometábolo.- Es un animal que tiene una metamorfosis completa durante su desarrollo.

Insecto: Clase de animales invertebrados, del filo de los artrópodos, caracterizados por presentar un par de antenas, tres pares de patas y dos pares de alas.

Instar.- Es cada una de las etapas de desarrollo de larvas que se presentan en algunos artrópodos.

Integumento: Envoltura o cobertura. Se llama así al tejido epitelial que está en la superficie de varios animales.

Kairomonas.- Son compuestos químicos que benefician al organismo receptor. Por ejemplo cuando un enemigo natural capta el olor de su recurso natural.

Larva.- Es un estadio de desarrollo que presentan algunos insectos con metamorfosis completa.

Maíz voluntario.- Se refiere al maíz que nace y crece con las lluvias después de la cosecha del cultivo de maíz.

Metamorfosis.- Transformación que experimentan determinados animales en su desarrollo biológico y que afecta no solo a su forma sino también a sus funciones y su modo de vida; es típica de los insectos.

Nemátodo: Animales pertenecientes al phylum de gusanos pseudocelomados con más de 25,000 especies registradas. Se conocen vulgarmente como gusanos redondos debido a la forma de su cuerpo en un corte transversal.

Noctuidae: Son una familia de palomillas nocturnas, con más de 35,000 especies conocidas.

Nucleocápsida: Es una estructura que consiste en una cápsula cilíndrica con una serie de anillos apilados perpendicularmente que están formados por un número constante de subunidades proteicas. En su interior se encuentra el ADN genómico enrollado y condensado.

Oviposición.- Acción de depositar huevos.

Phylum: Nivel taxonómico que define las características más importantes de un grupo amplio de organismos. Esta categoría está debajo del nivel de Reino y puede agrupar una o varias categorías llamadas Clases.

Plaga: Se llama a una población animal que produce pérdidas económicas, mediante daños físicos a productos, o materiales de interés humano (salud, plantas cultivadas, animales domésticos).

Polífago: Organismos que se alimenta de diferentes tipos de alimentos.

Pupa.- Estadio de desarrollo previo al estadio adulto de insectos de metamorfosis completa. Son también conocidos como capullos o crisálidas.

Sinomonas.- Son compuestos químicos cuyo efecto beneficia tanto al emisor como al receptor. Por ejemplo, el néctar de las flores que atraen al polinizador.

Tonelada (t): Medida de peso equivalente a 1000 kilos.

Textura de suelo.- Se refiere a la cantidad y tamaño de las partículas inorgánicas que posee un suelo: arena, limo y arcilla.

Virión: Es la unidad estructural de un virus. El viri3n es uno de los principales elementos infecciosos de los baculovirus, tanto en la transmisión del virus entre

individuos de una población como en la dispersión a varios tejidos y órganos en un mismo hospedero.

Virus: Patógeno subcelular altamente especializado y específico que consta de una o varias moléculas de ácidos nucleicos cubiertos por una cápside proteica y que puede tener o no una envoltura membranosa o lipídica. Estos patógenos solamente se replican dentro de células vivas.

LISTA DE ACRÓNIMOS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

Bt: *Bacillus thuringiensis*

BV: Budded Virus. Viriones brotados

CIIDIR: Centro Interdisciplinario Institucional para el Desarrollo Integral Regional

CONAGUA.- Comisión Nacional del Agua.

GVs.- Granulovirus.

HE.- Hongos Entomopatógenos.

ICTV.- International Committee on Taxonomy of Viruses

IPN: Instituto Politécnico Nacional

MIP.- Manejo Integrado de Plagas.

M.O.- Materia Orgánica.

NE.- Nemátodos Entomopatógenos.

NPVs.- Nucleopoliedrovirus.

OBs.- Occlusion Bodies. Cuerpos de Oclusión.

ODV.- Occlusion-Derived Virus. Virus derivados de cuerpos de oclusión

OGM.- Organismos Genéticamente modificados

O-I.- Otoño-Invierno.

PCR.- Polymerase Chain Reaction.

pH.- Potencial de Hidrógeno

PIB.- Producto Interno Bruto

P-V.- Primavera-Verano.

SfMNPV.- Nucleopoliedrovirus Múltiple de *Spodoptera frugiperda*.

SIAP-SAGARPA.- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

t: Tonelada

TAE: Tris, ácido acético y EDTA

USDA.- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

UV.- Ultravioleta.

VE.- Virus Entomopatógenos.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Fenología del cultivo de maíz.....	13
Figura 2. Ciclo de vida del gusano cogollero.....	18
Figura 3. Estructura química de insecticidas químicos usados para el control de <i>Spodoptera frugiperda</i>	20
Figura 4. Ciclo de vida general de los parasitoides	23
Figura 5. Diagrama de dos fenotipos de baculovirus	29
Figura 6. Ubicación geográfica de los sitios de colecta del gusano cogollero en los municipios de Guasave y Sinaloa de Leyva, Sinaloa, México.....	75
Figura 7. Abundancia mensual de parasitoides en larvas de gusano cogollero en 2016 y 2017.....	79
Figura 8. Principales parasitoides del gusano cogollero obtenidos en maíz cultivado y maíz voluntario.....	81
Figura 9. Larvas con signos de infección por entomopatógenos.....	84
Figura 10. Mortalidad de larvas <i>S. frugiperda</i> de segundo instar en tres concentraciones de OBs	105
Figura 11. Condiciones naturales. Mortalidad después de cuatro meses de incubación de OBs en tres texturas de suelo	110
Figura 12. Malla sombra 90%. Mortalidad después de cuatro meses de incubación de OBs en tres texturas de suelo	110
Figura 13. Condiciones controladas. Mortalidad después de cuatro meses de incubación de OBs en tres texturas de suelo	110

Figura 14. Condiciones naturales. Mortalidad después de cuatro meses de incubación de OBs en suelo arcilloso con tres niveles diferentes de pH..... 112

Figura 15. Malla sombra 90%. Mortalidad después de cuatro meses de incubación de OBs en suelo arcilloso con tres niveles diferentes de pH..... 112

Figura 16. Condiciones controladas. Mortalidad después de cuatro meses de incubación de OBs en suelo arcilloso con tres niveles diferentes de pH..... 112

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Proporción mensual de parasitoides y mortalidad desconocida	83
Cuadro 2. Análisis no paramétrico de comparaciones múltiples de la abundancia de parasitoides entre los meses muestreados	85
Cuadro 3. Porcentaje de mortalidad en tres tipos de suelo con tres concentraciones	106
Cuadro 4. Frecuencia de mortalidad bajo tres tipos de condiciones y tres tipos de suelo, en cinco fechas de muestreo	108
Cuadro 5. Mortalidad de larvas de gusano cogollero en suelo arcilloso con tres diferentes niveles de pH bajo diferentes condiciones ambientales	109

RESUMEN

El maíz es un cultivo de gran importancia a nivel mundial; sin embargo, diversos factores climatológicos, así como las enfermedades y plagas, lo afectan frecuentemente y ponen en riesgo su producción. Para combatir a las plagas, se usan plaguicidas de origen químico sintético, que por lo general son de amplio espectro y de alta residualidad, causando grandes problemas ecológicos. Para contribuir a la reducción de este tipo de productos y proponer alternativas más ecológicas, es necesario estudiar y evaluar agentes de control biológico para las plagas que afectan este cultivo, tal es el caso de la principal plaga del maíz, el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Por esta razón, el presente estudio tuvo por objetivos: determinar la presencia en campo de parasitoides y entomopatógenos de dicha especie y evaluar la persistencia e infectividad del nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) en suelo bajo diferentes condiciones experimentales.

En un primer estudio, se determinó la presencia natural de parasitoides y entomopatógenos en *S. frugiperda* en 190 campos de cultivos de maíz en el norte del estado de Sinaloa, México, durante los ciclos agrícolas 2016 y 2017. Larvas de *S. frugiperda* se recolectaron en plantas de maíz cultivado y de maíz voluntario. Los parasitoides se identificaron mediante claves taxonómicas. Las larvas con signos de infección por patógenos virales, bacterianos o fúngicos, fueron analizadas mediante PCR. Los parasitoides obtenidos fueron *Meteorus laphygmae*, *Chelonus insularis*, *Cotesia marginiventris*, *Chelonus sonorensis*, *Pristomerus spinator* y *Lespesia* sp. La mortalidad causada por parasitoides osciló entre 7 y 9.3%, en 2016 y 2017, respectivamente. Las larvas recolectadas en maíz voluntario registraron parasitismo entre 12.5 y 16.5% en 2016 y 2017, respectivamente. Los parasitoides encontrados más frecuentemente fueron *M. laphygmae*, *C. insularis* y *C. marginiventris*, que en conjunto representaron 9.5% del parasitismo total. La mortalidad idiopática fue del 2.6% en todo el estudio, pero no se encontraron entomopatógenos. Es necesario realizar más estudios para determinar su potencial como agentes de control biológico y para evaluar si el tipo de maíz influye en su abundancia.

El segundo estudio surgió a raíz de los hallazgos del anterior, en el que no se registraron entomopatógenos virales en las muestras de larvas en campo de cultivo. En este trabajo, se evaluó la infectividad y persistencia de los cuerpos de oclusión (OB) del SfMNPV en suelos agrícolas de la misma área de estudio. Se eligieron suelos con diferentes texturas: arenosa, limosa o arcillosa, los cuales tienen diferentes valores de pH. Estos suelos se evaluaron experimentalmente bajo tres condiciones ambientales: (i) en condiciones naturales, (ii) bajo malla sombra a temperatura ambiente y (iii) en oscuridad a temperatura constante de 25 °C. La infectividad y persistencia viral se determinaron cuantificando la mortalidad de larvas de segundo instar de *S. frugiperda* mensualmente en cinco periodos, desde el tiempo cero al inicio del experimento, hasta el cuarto mes post-exposición. Los resultados indicaron que, bajo condiciones naturales, la infectividad y persistencia de OB disminuyeron constantemente desde el primer mes, mientras que bajo condiciones controladas (25 °C y en oscuridad), los OB preservaron su infectividad y persistencia, independientemente del tipo de suelo usado. No obstante, el tipo de suelo también influyó en la infectividad y persistencia viral, siendo los suelos arcillosos con pH 8.0 los que más afectaron la infectividad/persistencia, mientras que los suelos limosos pH 7.5 y arenosos pH 7.0 contribuyeron a preservarlos. Se concluye que las condiciones naturales como tipo de suelo y factores ambientales como radiación UV y temperatura, contribuyen principalmente a la reducción en la persistencia viral en los campos de cultivo en el norte de Sinaloa. Otros factores que pueden contribuir a la reducción de la persistencia viral en suelo sería la textura del suelo, el pH y posiblemente uso de plaguicidas agroquímicos, ya que pueden reducir las poblaciones de hospederos de estos patógenos aún en épocas que no hay cultivos, haciendo más difícil la presencia de dichos entomopatógenos en la zona. Por lo anterior, el presente estudio proporcionó datos importantes sobre el papel de parasitoides y factores que afectan la infectividad/persistencia de virus entomopatogenos, para incluirlos dentro de un manejo integrado del gusano cogollero en cultivos de maíz en México.

ABSTRACT

Maize is a crop of great importance worldwide; nonetheless, various climatic factors, as well as diseases and pests frequently jeopardizing its production. In order to fight pests, broad-spectrum chemical pesticides are used leaving high amounts of residues, causing major ecological problems. In order to reduce the impact of such products and to propose more ecological alternatives, it is necessary to study and evaluate biological control agents against the pests affecting this crop. A major pest for maize crops is the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith). Hence, this study had the following objectives: (i) to determine the presence of parasitoids and entomopathogens against such species in the field and (ii) to evaluate the persistence and infectivity of the multiple nucleopolyedrovirus of *Spodoptera frugiperda* (SfMNPV) in soils under different experimental conditions.

In a first study, the natural presence of parasitoids and entomopathogens in *S. frugiperda* was determined in 190 maize crop fields in northern Sinaloa, Mexico, during the 2016 and 2017 agricultural cycles. Larvae *S. frugiperda* were collected in cultivated and re-grown maize plants. Parasitoids were identified using taxonomic keys. Larvae with signs of infection by viral, bacterial or fungal pathogens were analyzed by PCR. The parasitoids obtained were *Meteorus laphygmae*, *Chelonus insularis*, *Cotesia marginiventris*, *Chelonus sonorensis*, *Pristomerus spinator* and *Lespesia* sp. The mortality caused by these parasitoids ranged between 7 and 9.3%, in 2016 and 2017, respectively. Larvae collected in re-grown maize had parasitism between 12.5 and 16.5% in 2016 and 2017, respectively. Idiopathic mortality was 2.6% in the entire study, but no entomopathogens were found. Further studies are necessary to determine their potential as biological control agents and to assess whether the type of corn influences their abundance.

The second study arose from the findings of the previous one, in which no viral entomopathogens were recorded in larvae collected from the fields. Here, the infectivity and persistence of SfMNPV occlusion bodies (OB) in agricultural soils

from the same study area were evaluated. Soils with different textures were chosen: sand, silt or clay with different pH values. These soils were evaluated experimentally under three environmental conditions: (i) under natural conditions, (ii) under shade net at room temperature and (iii) in darkness at a constant temperature of 25 °C. Infectivity and viral persistence were determined by monthly records of mortality of *S. frugiperda* second instar larvae during five months (time zero at the beginning of the experiment until four months post-exposure). Results indicated that under natural conditions, OB infectivity and persistence constantly decreased from the first month, whereas under controlled conditions, OB preserved their infectivity and persistence, independent of the soil type used. However, soil type also influenced infectivity and viral persistence, with clay soils at pH 8.0 being the ones that most affected infectivity/persistence, while silt soils at pH 7.5 and sandy soils at pH 7.0 appeared to preserve them. It is concluded that natural conditions such as soil type and environmental factors such as UV radiation and temperature, are major effectors for the reduction of viral persistence in cultivated maize fields in northern Sinaloa. Other factors that may contribute to the reduction of viral persistence in soil would be soil texture, pH and possibly the use of agrochemical pesticides, since they can reduce host populations even in times when there are no crops, decreasing the presence of such entomopathogens in the area. This study provided important data on the role of parasitoids and the factors influencing the infectivity/persistence of entomopathogenic viruses, in order to consider them as candidates of an integrated management of the fall armyworm in maize crops in Mexico.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz, *Zea mays* L., es un cultivo de gran importancia a nivel mundial, puesto que además de proporcionar un completo aporte nutricional, es la base para elaborar distintos alimentos. En México, constituye el principal cultivo y es fuente de insumo para la ganadería y agroindustria, además de formar parte de la alimentación diaria del pueblo mexicano (Paliwal *et al.*, 2001; Ranum, 2014; USDA, 2019). La superficie sembrada en los últimos años se ha mantenido alrededor de 17.5 millones de ha, de las cuales el 52% fueron cultivadas con maíz para grano. México en el año agrícola 2018 registró una superficie sembrada de 7'345,786 ha, con una producción estimada de 21'185,003 t y un rendimiento de 3.9 t/ha (SIAP-SAGARPA, 2018).

El estado de Sinaloa destaca por ser un productor importante de alimentos agrícolas, tanto para consumo nacional como para exportación. Los principales cultivos agrícolas que se establecen en el estado son: maíz, frijol (*Phaseolus vulgaris*, Linneo), garbanzo (*Cicer arietinum*, Linneo), trigo (*Triticum* spp. Linneo), sorgo (*Sorghum bicolor*, Linneo), cártamo (*Carthamus tinctorius*, Linneo) y hortalizas, además de otros que complementan la producción agrícola (SIAP-SAGARPA, 2018). En el año agrícola 2018, Sinaloa ocupó el primer lugar en la producción de maíz a nivel nacional, registró una superficie sembrada de 514,446 ha, la cual generó una producción estimada de 5'642,221 de t, con un promedio de 11.2 t/ha (SIAP-SAGARPA, 2018).

El maíz, al igual que otros cultivos agrícolas, sostiene a diversos consumidores biológicos, que encuentran en esta planta los recursos indispensables para vivir (García-Lara, 2007; Arifie *et al.*, 2019). Entre dichos consumidores destacan los insectos, nemátodos, hongos, bacterias y virus (CIMMYT, 2004; Arifie *et al.*, 2019). Entre los insectos, el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), causa grandes pérdidas en la producción del grano (Del Rincón *et al.*, 2006; Chinaru, 2018). En México, las pérdidas del grano de maíz ocasionadas por *S. frugiperda* oscilan entre 30 y 40% (Rodríguez y de León, 2008; Du Plessis *et al.*, 2018), y pueden ser mayor cuando no se hace un

manejo adecuado de la plaga. *Spodoptera frugiperda* se dispersa y reproduce a través de todo el continente americano (Abbas *et al.*, 1989; Kebede y Shimalis, 2019); sin embargo, su reciente expansión hacia el continente Africano (Goergen *et al.*, 2016) ha incrementado el interés por diseñar planes de manejo del insecto.

El control biológico ha adquirido gran interés para incluirse dentro del MIP como una alternativa para reducir el uso excesivo de plaguicidas. Dentro de esta estrategia, los insecticidas biológicos basados en virus, bacterias, hongos y nemátodos entomopatógenos, son una alternativa prometedora a los agroquímicos, ya que son más seguros para la salud humana y ofrecen alta especificidad hacia la plaga. Además, su impacto sobre el ambiente es menor (del Puerto *et al.*, 2014). Las características más notables de los bioinsecticidas son: compatibilidad con la fauna benéfica, baja residualidad y menor probabilidad de que las plagas seleccionen resistencia (Nicholls, 2008; Elósegui, 2006; Baddi y Abreu, 2006; Baddi *et al.*, 2004; Ravi-Sharma *et al.*, 2018).

De estos agentes patógenos, los virus son una alternativa muy promisoría contra plagas de lepidópteros debido a su alta especificidad y por su capacidad de generar grandes epizootias (Fuxa, 1991). La familia Baculoviridae es la más numerosa y ampliamente estudiada, con aplicaciones reconocidas en programas de control de plagas agrícolas y forestales (Moscardi, 1999; Williams *et al.*, 1999; Cisneros *et al.*, 2002; Armenta *et al.*, 2003; Ravi-Sharma *et al.*, 2018).

Los baculovirus son virus de ADN de doble cadena ocluidos, cuyo ciclo de replicación se lleva a cabo en el núcleo e involucra un proceso complejo que se detalla más adelante (Ravi-Sharma *et al.*, 2018). Los cuerpos de oclusión (OBs, por sus siglas en inglés) son estructuras proteicas que llevan inmersas varios viriones.

La persistencia de los OBs fuera del insecto hospedero está determinada por diversos factores bióticos y abióticos. Sobre el follaje de las plantas, los OBs son inactivados por la irradiación solar, luz ultravioleta, pH y temperaturas altas (Jones *et al.*, 1993; Young, 2001; Malmstrom, 2018). En contraste, se ha

mencionado que el suelo representa un reservorio estable para el virus a través del tiempo (Jaques, 1964; Olofsson, 1988; Thompson *et al.*, 1981; Thézé *et al.*, 2018). La supervivencia de los OBs en el suelo disminuye conforme el pH es más básico, debido a que la matriz proteica se desnaturaliza en condiciones alcalinas (Jaques, 1974; McLeod *et al.*, 1982; Malmstrom, 2018). Las altas temperaturas pueden también reducir la persistencia de los OBs en el suelo (Peng *et al.*, 1999; Young, 2001; Shikano y Cory, 2015). Sin embargo, los OBs y los cadáveres de las larvas infectadas son movilizados a través de la lluvia hacia el suelo, siendo éste el destino final de los OBs, los cuales son trasladados de nuevo hacia la superficie de las hojas por el salpiqueo de las gotas de lluvia, viento y otros artrópodos (Fuxa y Richter, 2001; Hochberg, 1989; Thézé *et al.*, 2018).

El SfMNPV ha sido aislado de poblaciones del gusano cogollero en Estados Unidos de América, Nicaragua, Colombia, Argentina (Shapiro *et al.*, 1991; Berretta *et al.*, 1998; Escribano *et al.*, 1999; Barrera *et al.*, 2011) y de muestras de suelo de cultivos de maíz en México (Ríos-Velasco *et al.*, 2011, García-Banderas, 2016). Algunos de estos aislados han sido evaluados bajo condiciones de campo en el sureste de México para el control de *S. frugiperda* (Williams, 1999), lo cual ha resultado en niveles importantes de mortalidad larvaria combinado con una mortalidad significativa del parasitismo natural (Armenta *et al.*, 2003). Al respecto, se conoce que *S. frugiperda* es atacado por varias especies de parasitoides (Andrews, 1988, Wheeler *et al.*, 1989; Sisay *et al.*, 2019), los cuales pueden ocasionar porcentajes de mortalidad entre 15-30% (Martínez *et al.*, 2000) y 35-70% (Armenta *et al.*, 2003) en las poblaciones naturales del insecto. En México, se tiene un registro de al menos 40 especies de parasitoides (Molina *et al.*, 2003; Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2015).

Por otra parte, los parasitoides se encuentran regulando de manera natural las poblaciones de *S. frugiperda*, siendo una alternativa promisorio para el control de esta plaga en campo. Los parasitoides más comunes de *S. frugiperda* son himenópteros de la familia Braconidae, Eulophidae y Ichneumonidae además de moscas parasitas (dípteros) de las familias Sarcophagidae y Tachinidae (Molina *et*

al., 2003; Shylesha *et al.*, 2018). El intervalo de parasitismo natural de *S. frugiperda* en diferentes zonas productoras de maíz de México varía del 8 al 50% (Martínez *et al.*, 2000, Armenta *et al.*, 2003, Estrada *et al.*, 2013, Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2015, Ordoñez *et al.*, 2015). En los estados del norte de México, la tasa de parasitismo fue de 32.2% en Sonora (Cortez-Mondaca *et al.*, 2010), 35.2% en Coahuila (Ríos-Velasco *et al.*, 2011), mientras que en Durango fue de 19.8% (García-Gutiérrez *et al.*, 2013) y 36.8% (González *et al.*, 2014).

Debido al monocultivo del maíz en el estado de Sinaloa, se presentan altas poblaciones de insectos plaga, siendo la principal el gusano cogollero. Esta plaga causa grandes pérdidas a la producción cuando no se realiza un manejo adecuado. Para controlar esta plaga se realizan hasta tres aplicaciones de plaguicidas químicos, lo cual representa un riesgo ambiental y a la salud humana en la región. Por ello es necesario explorar otras estrategias de control de plagas que sean sustentables. El uso de entomopatógenos y parasitoides como agentes de control biológico son una alternativa promisorio dentro del esquema de manejo integrado de esta plaga en campo.

DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA TESIS

El Capítulo I plantea la importancia del maíz en el mundo y en México, y los problemas fitosanitarios del cultivo, además enfatiza el desarrollo de estrategias de control biológico contra las plagas del maíz. Se describen los antecedentes de los parasitoides en México y en Sinaloa. También se enumeran las características generales de los virus entomopatógenos, su importancia como agentes del control biológico y los factores que afectan la persistencia de los virus en suelos agrícolas del estado de Sinaloa.

El Capítulo II describe la justificación, hipótesis y objetivos de la tesis.

El Capítulo III corresponde al artículo publicado en la revista *Southwestern Entomologist*, titulado: "Parasitoids and Entomopathogens Associated with Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Northern Sinaloa" "(Parasitoides y Entomopatógenos Asociados con el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, en el Norte de Sinaloa)". El cual describe la presencia y abundancia de los parasitoides encontrados en larvas de gusano cogollero recolectadas en cultivos de maíz en la región, durante las temporadas Otoño-Invierno, Primavera-Verano y en maíz voluntario. También se realizó la búsqueda de entomopatógenos asociados a esta plaga, sin éxito.

El capítulo IV describe el experimento de la persistencia de *SfMNPV* en suelos agrícolas bajo condiciones experimentales y se evaluó la patogenicidad sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* en tres diferentes condiciones ambientales: (1) bajo condiciones naturales, (2) malla sombra con protección de 90% y (3) en la oscuridad a 25 °C. Se utilizaron suelos con diferente textura y pH, donde se midió la persistencia del virus en el suelo a través del tiempo (de 0 a 4 meses, en intervalos mensuales). Se observó que en condiciones naturales en suelos ligeramente alcalinos (pH 8.0) la persistencia viral fue menor que en las otras condiciones (bajo malla sombra y en oscuridad). Esto se explica en función de la intensidad de los rayos de luz UV que inactivan el virus rápidamente. Lo anterior

nos sugiere que la persistencia de los virus en suelos agrícolas está influenciada por la radiación solar y pH alcalino del suelo.

El capítulo V es la discusión integradora de todos los capítulos que componen esta tesis. La diversidad de parasitoides asociada con *S. frugiperda* ha sido bien documentada en América (Van-Huis 1981, Andrews 1988, Carrillo 1993, Cave 1993, Ordóñez-García *et al.*, 2015). Diversos estudios han mostrado una enorme variedad de enemigos naturales de *S. frugiperda*, desde un punto de vista natural y también como una estrategia de control biológico, pero especialmente en diversidad y abundancia de braconidos. En este estudio se lograron encontrar como principales parasitoides del gusano cogollero, en maíz cultivado y maíz voluntario a *Meteorus laphygmae*, *Chelonus insularis* y *Cotesia marginiventris*, como ha sido reportado en México por Cortez-Mondaca *et al.* (2010), García-Gutiérrez *et al.* (2013), Gutiérrez-Ramírez *et al.* (2015) y Ordóñez-García *et al.* (2015). Por otra parte, la persistencia de OBs en suelos ha sido tema de interés en diversas publicaciones (Fuxa y Richter, 2001; Murillo *et al.*, 2006; Murillo *et al.*, 2007; Mehrvar, 2009). En el presente estudio se determinó que la persistencia de los virus en suelos agrícolas está influenciada por la radiación solar y pH básicos, donde la luz UV y pH alcalino (8 - 8.5) del suelo contribuyen a disminuir la persistencia del virus desde el primer mes de muestreo. Resultados similares fueron encontrados por Murillo *et al.* (2007).

Por último, en el capítulo VI se mencionan las conclusiones principales y recomendaciones a este trabajo y el curriculum vitae del autor de esta tesis.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

CAPITULO I. ANTECEDENTES

1.1. Aspectos generales del maíz

1.1.1. Producción y tecnología del cultivo

El maíz es el cultivo más representativo de México por su importancia económica, social y cultural. El consumo promedio per cápita al año es de 196.4 kg de maíz blanco, especialmente en tortillas, constituyendo el 20.9% del gasto total en alimentos realizado por las familias mexicanas (SIAP-SAGARPA, 2017).

El maíz aporta el 15% del ingreso agrícola nacional al PIB y casi el 85% de la producción de cereales. La producción de maíz grano se divide en blanco y amarillo. El maíz blanco representa el 86.9% de la producción y se destina principalmente al consumo humano. Esta producción satisface la totalidad del consumo nacional, mientras que el maíz amarillo se destina a la industria o a la fabricación de alimentos balanceados para la producción pecuaria. La producción de maíz amarillo satisface sólo el 24% de los requerimientos nacionales (SIAP-SAGARPA, 2017).

Gran parte del territorio nacional es propicio para la producción de maíz grano. De las 7.8 millones de hectáreas de maíz grano sembradas en 2017, el 75.6% de la superficie no está mecanizada. El 65% no cuenta con tecnología aplicada a la sanidad vegetal, mientras que el 30.2% del territorio sembrado con ese cultivo contó con asistencia técnica. Por otro lado, la irrigación de este cereal es por riego de gravedad (3.6%), 0.2% riego por bombeo, 45.2% por otro tipo de riego y el 51% restante, de temporal (lluvia) (SIAP-SAGARPA, 2017).

1.1.2. Morfología, crecimiento y desarrollo

El maíz es una planta con alta actividad fotosintética y posee un alto potencial para producir carbohidratos. Fue el primer cereal sometido a rápidas e importantes transformaciones tecnológicas, para la obtención de mayores rendimientos por superficie y tolerancia a plagas, y enfermedades que afectan considerablemente el rendimiento del grano. El éxito de la tecnología basada en la

ciencia para el cultivo del maíz ha estimulado una revolución agrícola generalizada en muchas partes del mundo (Paliwal *et al.*, 2001; Guacho-Abarca, 2014).

El maíz necesita de 450 a 600 mm de agua para completar su ciclo de vida, la cual es adquirida principalmente del suelo. Al llegar a la madurez, cada planta habrá consumido 250 L de agua. La planta es de aspecto robusto, tiene un solo tallo de gran longitud, sin ramificaciones, que puede alcanzar hasta 4 m de altura. Las flores masculinas y femeninas están separadas en la planta; la inflorescencia masculina es un espigón amarillo que puede almacenar de 20 a 25 millones de granos de polen; la flor femenina contiene como máximo mil granos de polen y se forman en unas estructuras vegetativas denominadas espádices (Plessis, 2003; Sifuentes-Ibarra *et al.*, 2018).

Las diferentes etapas de crecimiento y desarrollo duran desde que la semilla es plantada y alcanza a formarse una plántula visible por encima de la superficie del suelo, hasta cuando la planta alcanza una etapa de madurez biológica. Las etapas de crecimiento de la planta y desarrollo del grano se muestran en la figura 1 (Plessis, 2003; Muntean *et al.*, 2014).

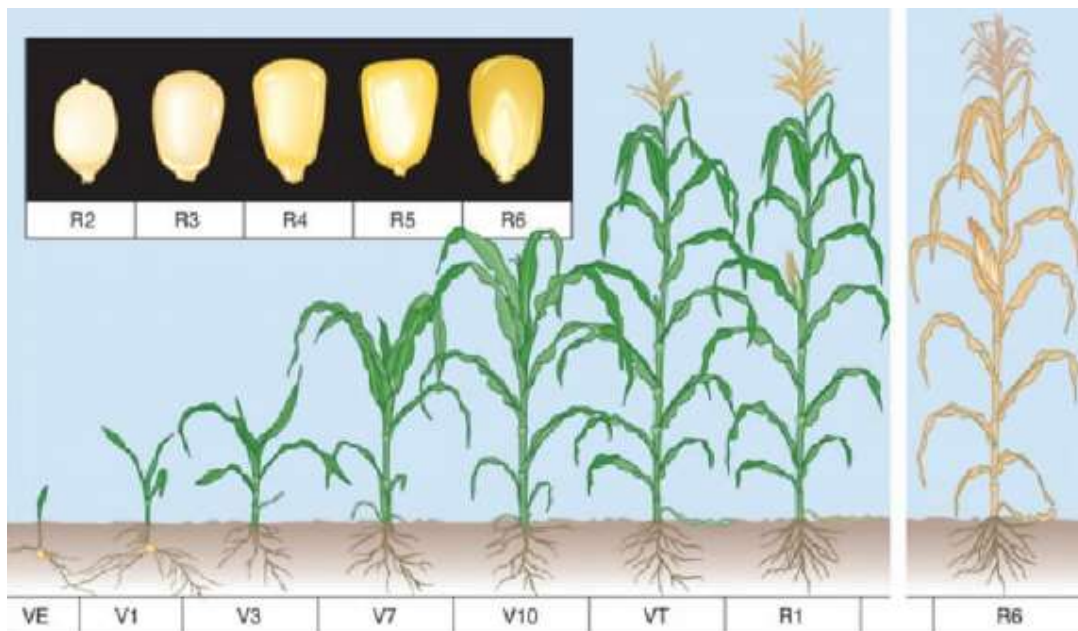


Figura 1. Fenología del cultivo de maíz. Germinación y emergencia (VE); etapas de crecimiento (etapas V1 - V3), etapa de crecimiento 4, (etapa V7 - V10),

etapa de crecimiento 5 (etapa VT), etapa de crecimiento 6 (Fase reproductiva R1) y etapa R6 (madurez del grano) (Valdez *et al.*, 2012).

1.1.3. Importancia

El maíz es una de las plantas cultivadas de mayor importancia económica, alimenticia e industrial; es uno de los granos alimenticios de mayor producción mundial y de los más antiguos que se conocen. En México, el maíz ha sido cultivado desde tiempos prehispánicos y hasta la fecha es fundamental para la población, debido a que constituye la base de la dieta de los mexicanos. Además, de él se obtiene una gran variedad de derivados como jarabes, tortillas, aceites, cereales, biocombustible, bebidas, pan, etc. (Fernández-Suárez *et al.*, 2013; Parra y Vargas, 2017).

México cuenta con 7.3 millones de hectáreas disponibles para el cultivo de maíz. El estado de Sinaloa siembra 429,000 ha en promedio de este grano (6.4% de la superficie total nacional), donde se producen 4.98 millones de toneladas por ciclo de cultivo, con un rendimiento promedio de 11.6 toneladas por hectárea. Sinaloa en rendimiento promedio por hectárea, produce hasta tres veces más comparado con la media nacional. La importancia de este producto también radica en la rentabilidad y posibilidades de incremento del rendimiento promedio por hectárea (SIAP-SAGARPA, 2018).

Este cultivo se siembra en dos ciclos anuales: Primavera-Verano (P-V) y Otoño-Invierno (O-I). Durante el ciclo O - I, se obtiene un mayor rendimiento del grano. Sin embargo, también es significativa la producción de elote para el mercado local y nacional (SIAP-SAGARPA, 2017).

1.1.4. Usos

El maíz es el cultivo básico de la dieta mesoamericana y la diversidad de platillos es muy amplia. Alarcón *et al.* (2001) revisaron las publicaciones sobre la gastronomía indígena y popular de México, y unificaron la información y recetas en

los siguientes temas: tortillas, tamales, caldos, guisos, dulces, bebidas, lácteos, platillos ceremoniales, panes, salsas y atoles.

La producción también se destina a la obtención de compuestos químicos que son comercializados en alimentos, medicinas y cosméticos: miel de maíz, azúcar de maíz, dextrosa, almidón o fécula, aceite, color caramelo, dextrina, malto dextrina, ácido láctico, sorbitol y etanol (Martínez *et al.*, 2018). Por otro lado, se le considera un recurso energético renovable, ya que de él se obtiene el etanol, un alcohol derivado de la fermentación del almidón del maíz que se utiliza principalmente en automóviles y camiones (Esteva, 2003; Milán-Carrillo *et al.*, 2017).

1.1.5. Problemas fitosanitarios

El cultivo de maíz puede ser afectado por una serie de patógenos, vectores de enfermedades o plagas que causan importantes daños económicos a su producción y ponen en riesgo la seguridad alimentaria (Paliwal *et al.*, 2001; Subedi, 2015). Entre las enfermedades más comunes causadas por hongos destacan el carbón de la espiga (*Sphacelotheca reiliana* Khun), la roya común (*Puccinia sorghi*), el tizón foliar (*Exserohilium turcicum*), la pudrición del tallo y antracnosis foliar (*Colletotrichum graminicola*), la pudrición de raíz y tallo (*Fusarium* spp. y *Macrophomina phaseolina*), manchas foliares (*Helminthosporium maydis*) y el carbón del elote (*Ustilago maydis*). Por otro lado las bacterias y virus también son causantes de enfermedades en maíz, como la bacteria causante del achaparramiento del maíz (*Spiroplasma kunkeli*) y el virus del mosaico del maíz (VMM) (CIMMYT, 2004; Subedi, 2015).

1.2. Insectos plaga del maíz

Las principales plagas que afectan a este cultivo son: el barrenador del tallo *Diatrea saccharalis* (Fabricius), araña roja *Olygonychus mexicanus* (McGregor & Ortega) y *Tetranychus urticae* (Koch), chapulín *Sphenarium purpuracens* (Charpentier), *Melanophus differentialis* (Thomas) y *Taeniopoda eques* (Burmeister); la gallina ciega *Phyllophaga* sp. (Harris), *Cyclocephala* sp. (Arrow),

Diplotaxis sp. (DC), *Macroductylus mexicanus* (Burmeister); los trips *Frankliniella* spp., el gusano alfilerillo *Diabrotica balteata* (Leconte), el gusano trozador *Agrotis ipsilon* (Hufnagel), el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) y el gusano elotero *Helicoverpa zea* (Boddie). Estas dos últimas especies son las más importantes, llegando a causar hasta un 60% de las pérdidas (CESAVEG, 2012; CIMMYT, 2004; León-García *et al.*, 2012; Valdez *et al.*, 2012; Subedi, 2015).

Otra plaga importante del cultivo de maíz y de carácter cuarentenario es *Helicoverpa armigera* (Hübner), debido a los grandes daños que causa en los cultivos donde se establece. Comúnmente es conocida como oruga capillera del viejo mundo, debido a los daños que causa en Europa, Asia, África y Oceanía. En América se ha identificado en Brasil, Argentina y Uruguay. Es una especie altamente polífaga donde sus larvas consumen hojas, tallos, brotes, botones florales, flores y frutos. Se alimenta de más de 180 especies de plantas cultivadas de las cuales destacan el algodón, sorgo, maíz, tomate, soya, garbanzo, etc. (Castiglioni *et al.*, 2016).

1.2.1. Gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*

Éste es considerado una de las plagas más importantes del maíz en las regiones tropicales y subtropicales de América. En diversas entidades de México, las pérdidas causadas por este insecto van de 13 a 60% y en ocasiones, pérdidas totales del cultivo, especialmente cuando se encuentra en la etapa fenológica de floración. Los daños más serios se presentan en las regiones tropicales y subtropicales donde no existe sistema de riego (Del Rincón *et al.*, 2006; Du Plessis *et al.*, 2018).

Se han reportado dos genotipos de *S. frugiperda*, que han sido caracterizados como especies hermanas (Otim *et al.*, 2018), cada una con preferencias por cultivos hospederos diferentes (por ejemplo, un genotipo prefiere cultivos de maíz, mientras que el otro prefiere arroz) y algunas diferencias menores en su biología (Nagoshi *et al.*, 2017). La especie “maíz/elote” prefiere

atacar maíz y sorgo, mientras que la especie “arroz” prefiere atacar arroz y otros pastos forrajeros (Meagher *et al.*, 2004; Nagoshi *et al.*, 2007; Arifie *et al.*, 2019).

1.2.1.1. Importancia

Bautista (2006) y Fotso-Kuate *et al.* (2019) mencionan que las larvas de los dos primeros instars, se alimentan de las hojas causando raspaduras aisladas sin romper el parénquima, lo cual le da la apariencia de zonas blanquecinas a manera de “ventanas”. Después, las larvas se trasladan al cogollo (punto de crecimiento de la planta) alimentándose de éste, causando un retraso en el desarrollo de la planta. Las larvas maduras en el suelo barrenan los tallos de las plántulas a nivel del cuello. Algunas larvas grandes logran penetrar al elote, por la parte basal y media (a diferencia de los gusanos del fruto, los cuales tienen su acción en la parte apical del elote), destruyendo los granos y favoreciendo con ello la entrada de otros insectos o patógenos.

1.2.1.2. Distribución

El origen de *S. frugiperda* no es conocido; sin embargo, investigadores como Lunginbill (1928), Borbolla (1981) y Sisay *et al.*, (2018) coinciden en que esta especie tuvo su origen en las regiones tropicales y subtropicales de América. La distribución del gusano cogollero es muy amplia, ya que se encuentra en todas la zonas productoras de maíz, aunque es más abundante en las regiones tropicales y subtropicales (Bautista, 2006; Fotso-Kuate *et al.*, 2019). Su presencia y daños en la República Mexicana se han reportado en todas los estados donde se realiza el cultivo del maíz (Hernández *et al.*, 2008; Hernández-Trejo *et al.*, 2017; Martínez-Jaime *et al.*, 2018). En 2016 se reportó por primera vez en el continente Africano, en Nigeria, Sao Tomé, Benin y Togo (Goergen *et al.*, 2016). Ahora se ha confirmado en más de 30 países africanos (FAO, 2018).

1.2.1.3. Ciclo de vida y hábitos

Como todos los lepidópteros, esta especie presenta una metamorfosis completa (huevo-larva-pupa-adulto). El ciclo de vida del gusano cogollero se

completa aproximadamente en 30 días en verano, 60 días en primavera y otoño, y 90 días en invierno (Figura 2) (All, 1988; Deshmukh *et al.*, 2018). Las hembras de *S. frugiperda* pueden producir hasta 1000 huevecillos, los cuales son depositados sobre las hojas en masas de aproximadamente 300 huevos. Similar a otras especies de *Spodoptera*, las masas de huevos son cubiertas por escamas y la eclosión ocurre en un intervalo de 3 a 5 días, dependiendo de la temperatura. Las larvas pasan por seis estadios, las cuales apenas eclosionan, emigran hacia la parte alta de las plantas para dispersarse a otras plantas hospederas. Posteriormente, las larvas se desplazan hacia el cogollo para completar su desarrollo.

Las larvas presentan canibalismo, lo cual las reduce a una por planta (Champan *et al.*, 1999; Du Plessis *et al.*, 2018). Las larvas del último estadio se dejan caer al suelo para dar inicio a la pupación, la cual ocurre en un capullo suelto o en una celda pupal. Las pupas miden entre 18 y 20 mm, son de color café y eclosionan en un lapso de 9 a 13 días. Los adultos presentan una coloración gris con tonos cafés y miden entre 32 y 38 mm de expansión alar. La longevidad de éstos es de 11 días a 20 - 30 °C (Pacheco, 1994; Du Plessis *et al.*, 2018).

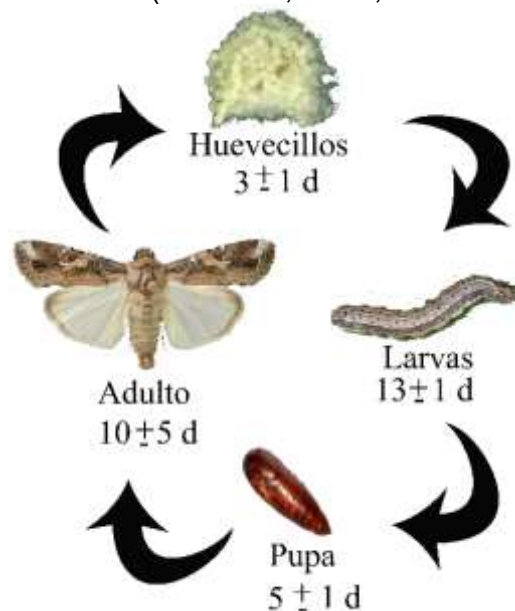


Figura 2. Ciclo de vida del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Su ciclo de vida dura alrededor de 31 días desde huevo hasta adulto (López, 2010).

1.2.2. Control químico de *S. frugiperda*

Para controlar al gusano cogollero se aplican insecticidas químicos que solucionan el problema de manera momentánea. Este tipo de control genera otros problemas en el mediano y largo plazo, como daños a la salud humana, afectación a insectos benéficos, e inducción de resistencia a químicos en las plagas. Este fenómeno obliga a aumentar las dosis de químicos, el número de aplicaciones y el cambio a otros insecticidas químicos más agresivos (Bahena y Cortez, 2015).

Pitre (1986), Sisay *et al.* (2019) mencionan diferentes tipos de insecticidas químicos (Figura 3) recomendados para el control de *S. frugiperda*: carbamatos (carbaril, thiocarb, metomilo), organofosforados (clorpirifos, diazinón, monocrotofos, parathion metílico) , piretroides (cipermetrina, lamdacialotrina, deltametrina y permetrina), organoclorados (endosulfán) y clorados (imidacloprid, chlorfenapyr, triflumuron, novaluron). Los carbamatos matan a los insectos causando la inactivación reversible de la enzima acetilcolinesterasa, interrumpiendo la transmisión de impulsos entre las células nerviosas. Los organofosforados también inhiben esta enzima, aunque lo hacen de manera irreversible y por lo tanto causan un envenenamiento más severo. Los piretroides, clorados y organoclorados son moduladores del canal de sodio, interfieren con los canales de sodio en la membrana nerviosa interrumpiendo la transferencia de iones y la transmisión de impulsos entre las células nerviosas (Mesnage y Séralini, 2018).

El uso de insecticidas químicos no es recomendado. Aunque corrigen el problema momentáneamente, su uso no es una estrategia sustentable. Estos pueden ingresar en los humanos a través de la inhalación de vapores, vacíos o polvos, por absorción gastrointestinal y aún por penetración de la piel, y de las mucosas expuestas. Sus efectos en la salud humana incluyen la afectación de las sinapsis entre neuronas, envenenamiento, dolor de cabeza, insomnio, vértigo, espasmos, coma, parálisis respiratoria, aumento de la salivación, respiración y lagrimeo, indigestión y desordenes visuales. También provocan teratogénesis y modificación de la espermatogénesis (Ghosal, 2018; Mesnage y Séralini, 2018).

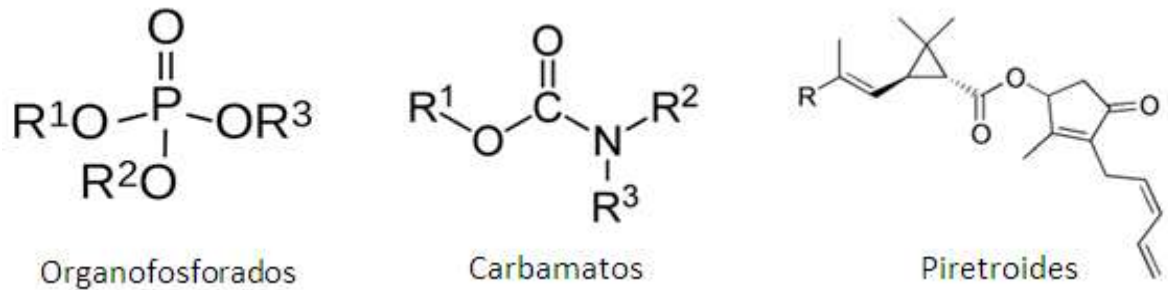


Figura 3. Estructura química de insecticidas químicos usados para el control de *S. frugiperda*.

1.2.3. Control biológico de *S. frugiperda*

Desde hace más de 40 años se han realizado diversas investigaciones para la implementación del uso de enemigos naturales o introducidos para el control biológico de esta plaga. Estos controladores se dividen en tres grandes grupos: depredadores, parasitoides y entomopatógenos (hongos, bacterias, nemátodos y virus) (Bahena y Cortez, 2015).

1.3. Depredadores

Con relación a los enemigos naturales, Badii y Abreu (2006) y Harrison *et al.* (2019) mencionan los siguientes depredadores generalistas de huevecillos y larvas de *S. frugiperda*: catarinitas (*Cycloneda sanguinea* Linneo, *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville) (Coleoptera: Coccinellidae); crisopas (*Chrysoperla carnea* Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), chinche pirata (*Orius insidiosus* Say) (Hemiptera: Anthoceridae), chinche ojona (*Geocoris punctipes* Say) (Hemiptera: Lygaeidae), chinche nabis (*Nabis ferus* Lineo) (Hemiptera: Nabidae), chinches asesinas: *Zelus exsanguis* Stal (Hemiptera: Reduviidae).

Se ha reportado que de los depredadores generalistas, el 24% son utilizados en el control biológico (Bernal, 2007), como es el caso de las catarinitas (*Coleomegilla maculata* De Geer) (Coleoptera: Coccinellidae), que son los insectos más conocidos como depredador de huevecillos del gusano cogollero en el norte de Veracruz, México (Hoballah *et al.*, 2004). Otras catarinitas son *Hippodamia*

convergens y *Cycloneda sanguínea* las cuales son consideradas como las más utilizadas en el control biológico (Camacho-Báez *et al.*, 2012). También las crisopas *Chrysoperla* spp. (Neuroptera: Chrysopidae) son especies que poseen gran importancia en el control biológico y se ha reportado que depredan a los huevecillos y larvas de *S. frugiperda* (Soto y Lannacone, 2008). Salamanca-Bastidas *et al.*, 2010 reportaron que el consumo de larvas de *S. frugiperda* por *Chrysoperla* aumenta la población de adultos de este depredador un 40%. Además se ha reportado el control por tijeretas *Doru* sp. (Dermaptera: Forficulidae), que son depredadores de huevos y larvas del gusano cogollero (Hoballah *et al.*, 2004). También están los sírfidos *Metasyrphus* sp. (Diptera: Syrphidae), los cuales se alimentan de larvas de esta plaga (García-Gutiérrez *et al.*, 2012).

1.4. Parasitoides

1.4.1. Generalidades de parasitoides

Los insectos parasitoides son los enemigos naturales más utilizados en el control biológico y juegan un papel importante en el control biológico natural. De un total de 1,193 enemigos naturales empleados para el control biológico, el 76% fueron parasitoides y el 24% restante fueron depredadores. Entre las especies parasitoides, el 84% fueron del Orden Hymenoptera, 14% correspondieron a Diptera, y el 2% restante a otros Órdenes (Scaccini, 2018). Los parasitoides son identificados con mayor frecuencia como responsables principales de la regulación de poblaciones de insectos (Scaccini, 2018).

1.4.2. Tipos de parasitoides

Los parasitoides se pueden clasificar en parasitoides primarios y secundarios. Los parasitoides primarios son aquellos que parasitan a hospederos que no son parasitoides, por ejemplo, especies herbívoras y depredadoras. En cambio, los parasitoides secundarios utilizan como hospederos a especies de parasitoides primarios (Whitfield *et al.*, 2018).

También están los parasitoides de huevos, larvas, ninfas, pupas, o adultos. Esta clasificación agrupa a los parasitoides con base al estado de desarrollo del hospedero en el que el parasitoide inicia y completa su desarrollo larvario (Costa-Ramos *et al.*, 2019).

Los parasitoides externos e internos son aquellos parasitoides que se alimentan externamente y aquellos que se alimentan internamente del hospedero. Otros nombres asignados a estos parasitoides son ectoparasitoide (para externos) y endoparasitoide (para internos) (Monticelli *et al.*, 2018).

1.4.3. Mecanismos de parasitismo

Para que ocurra el parasitismo es necesario que el parasitoide encuentre a su hospedero y se tienen que presentar una serie de factores que favorecen este proceso. Aquí, la planta que es atacada por la plaga juega un papel importante en la señal para que el parasitoide encuentre a su hospedero (Whitfield *et al.*, 2018). El olor de la planta que alberga al insecto plaga es atractivo por sí mismo al parasitoide. Igualmente se ha visto que las plantas infestadas emiten señales químicas volátiles específicas, producidas en respuesta al daño (herbivoría). A estos olores específicos inducidos por la herbivoría se les conoce como sinomonas (Whitfield *et al.*, 2018). En general, las sinomonas son señales químicas que producen beneficios tanto para el emisor (la planta, en este caso), como para el receptor, el parasitoide (Godfray, 1994; Thierry *et al.*, 2019).

Además de sinomonas, los parasitoides utilizan kairomonas para encontrar el hábitat de su hospedero. Una kairomona es una señal química que favorece al receptor (el parasitoide), pero no al emisor (el hospedero). Algunos ejemplos de kairomonas son olores emanados de la mielecilla producida por áfidos, o de las heces de muchos hospederos (Bernal, 2007; Thierry *et al.*, 2019). Una vez que el parasitoide encuentra a su hospedero, la hembra previamente fecundada por el macho (Figura 4), oviposita sobre, cerca, o dentro del hospedero, comenzando el desarrollo de la larva parasitoide a partir del consumo de su hospedero. Al final de este proceso, emerge el parasitoide adulto (Dindo y Nakamura, 2018).

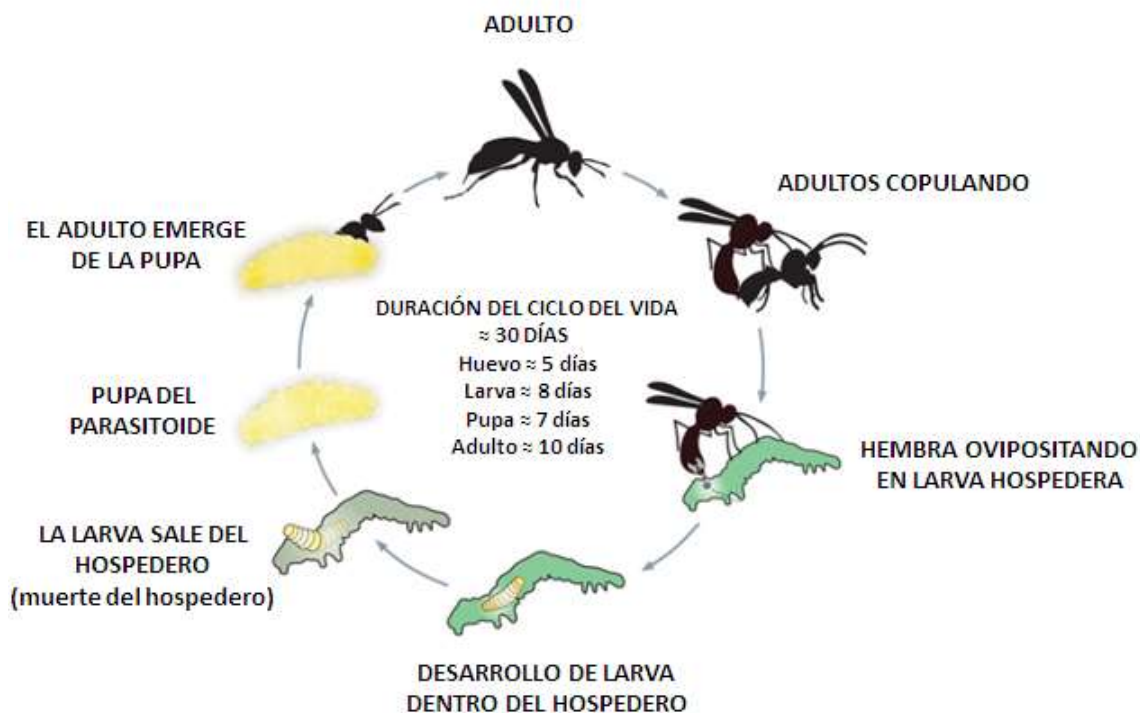


Figura 4. Ciclo de vida general de los parasitoides.

1.4.4. Especies predominantes en México y Sinaloa

A nivel mundial se ha reportado un total de 263 especies de parasitoides. De esas especies, el 33.1% (87 especies) se encuentran en México y 19 de estos parasitoides (7.2%) son endémicos del país (Bahena y Cortez, 2015).

La diversidad de parasitoides asociados a *S. frugiperda* ha sido bien documentada en América (Van-Huis, 1981; Andrews, 1988; Carrillo, 1993; Cave, 1993; Ordóñez-García *et al.*, 2015). Un gran número de estudios muestran la amplia variedad de enemigos naturales que tiene *S. frugiperda*, desde un punto de vista natural y como posibles agentes para implementar estrategias de control biológico (Sisay *et al.*, 2019). Específicamente, los miembros de la familia Braconidae son los más diversos y abundantes. En este grupo, el parasitismo que causa al estado larval ha sido el más estudiado, debido a que el parasitismo

causado a masas de huevos de *S. frugiperda* se dificulta para *Trichogramma* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Carrillo, 1993; Salvato *et al.*, 2018).

En México, la diversidad y abundancia de especies varía de acuerdo a la temporada y condiciones a través del año. En Sinaloa, Cortez-Mondaca *et al.* (2010) reportan a *C. marginiventris* - como el parasitoides más abundante desde junio a septiembre del 2008. En Nayarit los parasitoides más abundantes durante el 2012 y primavera-verano 2013 fueron *C. marginiventris* y *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae) (Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2015). En Chihuahua durante agosto y septiembre del 2014, las especies más abundantes fueron *Meteorus* sp. (Hymenoptera: Braconidae) y *Campoletis flavicincta* (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Ordóñez-García *et al.*, 2015). Durante la temporada primavera-verano del 2012, en Durango, *Chelonus sonorensis* (Hymenoptera: Braconidae) y *Chelonus insularis* fueron los más abundantes (García-Gutiérrez *et al.*, 2013). En Saltillo Coahuila en muestreos de julio a septiembre del 2009, la especie más predominante fue *C. insularis*, seguida de *C. cautus* (Hymenoptera: Braconidae) y *C. sonorensis* (Ríos-Velasco *et al.*, 2011). Las especies *C. sonorensis* y *C. insularis* fueron los parasitoides dominantes en cultivo de maíz en diferentes localidades de México, incluyendo Colima, Chiapas, Jalisco, Nayarit, Puebla y Veracruz durante el 2005 y 2006. También se han encontrado moscas que parasitan larvas del gusano cogollero (Jourdie *et al.*, 2010). González *et al.*, 2018, realizaron colectas de larvas de cogollero durante junio a agosto del 2016 en el estado de Durango, México y encontraron parasitoides de la familia Tachinidae. Un 6.8% del parasitismo encontrado fue por *Lespesia aletiae* (Diptera: Tachinidae) y *L. archippivora* (Diptera: Tachinidae), el 2.5% por *Archytas marmoratus* (Diptera: Tachinidae) y el 0.3% por *Winthemia deilephilae* (Diptera: Tachinidae).

Lo anterior demuestra que existen especies de himenópteros y dípteros que están regulando de manera natural las poblaciones de esta plaga y algunos de ellos son aptos para utilizarse como agentes de control biológico dentro de un manejo integrado del gusano cogollero en cultivo de maíz (Cortez-Mondaca *et al.* 2010; González *et al.*, 2018).

1.5. Hongos

Los hongos entomopatógenos (HE) son otro tipo de microorganismos que afectan al gusano cogollero, de los cuales sobresalen *Beauveria bassiana* (Vuillemin) y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff). Los estudios hechos con estos organismos se han enfocado principalmente en su utilidad como agentes de control biológico aplicándolos en agricultura de zonas templadas (Nicolai *et al.*, 2007; Maina *et al.*, 2018). La mayoría de los productos comerciales se basan en suspensiones de conidios (Ruiu, 2018; Pelizza *et al.*, 2019). *Beauveria bassiana* es el bioinsecticida fúngico más utilizado, dentro del mismo género, las cepas de *B. bassiana* y *B. brongniartii* que muestran un nivel variable de virulencia contra diversos objetivos ahora se usan como sustancias activas en diversas formulaciones (Ruiu, 2018; Moura-Jaronski, 2016; Zhang *et al.*, 2019; Pelizza *et al.*, 2019). Otras especies de hongos explotadas comercialmente en todo el mundo para el manejo de plagas incluyen *Hirsutella* spp. (Deuteromycota), *Verticillium lecanii* (Ascomycota), *Isaria* (= *Paecilomyces*) spp. (Ascomycota), cuya acción está asociada con la producción de metabolitos insecticidas (Ruiu, 2018; Mohamed-Aboelhadid *et al.*, 2018).

Entre las 171 formulaciones de HE desarrollados, los productos basados en *B. bassiana* representan el 43.9% del total de productos; los productos de *M. anisopliae* constituyen el 33.9% y los productos de *I. fumosorosea* y *B. brongniartii* comprenden el 5.8 y 4.1% respectivamente. El 12.3% restante corresponde a otros HE que son menos utilizados (Maina *et al.*, 2018). Los productos comerciales para controlar insectos en invernaderos y en campo incluyen "Cryptogram™ y Bb plus®, Metarhizium 50®, Biogreen® y Green Guard®, BIO1020® y Green Muscle®, Mycotrol®, BioBlast®, Bio Magic®, Betal®, Naturalis®, Ostrinol® (Maina *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019).

1.6. Bacterias

Diferentes bacterias de la familia Bacillaceae han sido estudiadas sobre su relación patogénica con invertebrados, especialmente insectos. Estos

entomopatógenos están bien representados por *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), la bacteria más estudiada y utilizada comercialmente. La mayoría de las cepas de *Bt* producen cristales proteicos durante la esporulación, que exhiben actividad específica contra larvas de lepidópteros, dípteros, coleópteros, hemípteros, himenópteros y malófagos. El uso de *Bt* como insecticida comercial en la agricultura por más de cuarenta años se basa en su alta especificidad y eficiencia hacia las diferentes plagas y su inocuidad hacia insectos, plantas y vertebrados benéficos (Ruiu, 2018). La actividad insecticida de *Bt* se basa en la biosíntesis de las toxinas cristalinas (Cry y Cyt) asociadas con los cuerpos parasporales producidos durante la fase de esporulación, además de otras toxinas y factores de virulencia. Algunas de estas son producidas y liberadas por la célula durante la fase vegetativa del crecimiento (Velásquez *et al.*, 2018).

El mercado mundial está representado por varios productos bacterianos basados en diferentes especies y cepas (Able-WC®, Biobit®, Foray®, Teknar®, Novodor®, VectoLex®, Majestene®, TracerTM120, Grandevo®, Bionemagon®). Entre estos, las gammaproteobacterias representan un grupo heterogéneo de especies que incluyen varios entomopatógenos como los endosimbiontes de nematodos insecticidas *Photorhabdus*, *Xenorhabdus* y *Serratia*, cuya acción insecticida es un proceso mediado por toxinas (Cordova- Kreylos *et al.*, 2013; Vandamme y Eberl, 2018; Tao *et al.*, 2019).

Desde hace varios años, se ha implementado el uso de organismos genéticamente modificados (OGM), siendo el maíz transgénico uno de los casos más relevante y controversial, debido a que puede causar daños en lepidópteros no blanco (Carzoli *et al.*, 2018). El maíz transgénico ó maíz *Bt*, posee genes de la bacteria *Bacillus thuringiensis* con capacidad insecticida sobre lepidópteros, entre ellos el gusano cogollero (Botha *et al.*, 2019). Existen diversos beneficios que han impactado en forma positiva directa e indirectamente sobre los productores, el medioambiente y los consumidores. Entre algunos de los beneficios se pueden mencionar la disminución en el uso de insecticidas químicos, la posibilidad de planificar las fechas de siembra y cosecha más flexiblemente, prolongar el período

de secado del grano en la planta, la posibilidad de realizar maíz de segunda con menor riesgo, la conservación de los agentes de control biológico, el incremento en el rendimiento debido principalmente a la prevención del ataque, la disminución en el uso de agua al acotar las pulverizaciones, la reducción de los costos de control tradicionales, la mejor calidad de los granos, la disminución en el contenido de micotoxinas, la merma en la densidad de la plaga reduciendo el ataque de la misma a otros cultivos, todo esto en un contexto de MIP (Carzoli *et al.*, 2018).

1.7. Nemátodos

Las especies de nematodos entomopatógenos (NE) en los géneros *Heterorhabditis* y *Steinernema* actúan como parásitos obligados y debido a su simbiosis mutualista con bacterias patógenas de insectos de los géneros *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*, respectivamente, poseen un potencial insecticida significativo (Kumar, 2019; Hassan y Jamal, 2017). Los NE normalmente entran activamente al hospedero a través de sus orificios (cavidad oral, ano y/o espiráculos) y liberan sus bacterias simbióticas en el hemocele (Yuksel y Canhilal, 2019).

Una variedad de productos basados en diferentes especies de nematodos se comercializan en todo el mundo dirigidos a plagas específicas (Capsanem®, Nemared®, Palma-Life®, Entonem®, Nemaplus®, Nemafrut®, Nemaflor®, Optimem-F®, Larvanem®, Nemaplant®, Nema-green®, Nematop®, Kraussei-System®, NemaTrident-CT®, Slugtech®) (Ruiiu, 2018; Salgado-Morales *et al.*, 2019).

1.8. Baculovirus

Las larvas de *S. frugiperda* son altamente susceptibles a los virus de la poliedrosis nuclear (VPN) (Baculoviridae). En 1975, el primer insecticida viral se comercializó con el nombre de Elcar™ (Sandoz Inc.) para el control de *H. zea* (Moscardi, 1999). Actualmente, existen más de 30 insecticidas basados en baculovirus para el control de plagas agrícolas y forestales (Moscardi, 1999).

1.8.1. Generalidades

Los baculovirus son patógenos altamente específicos hacia un hospedero y esta característica es muy importante cuando se trata de agentes de control biológico, debido a que se considera una gran ventaja para su uso como bioinsecticidas potenciales. Otros usos biotecnológicos de los baculovirus son como vectores de expresión de proteínas y agentes para terapia génica (Ono *et al.*, 2018). En diversos estudios se ha demostrado que cada especie de baculovirus establece interacciones únicas con su hospedero, que definen su susceptibilidad y que también se pueden ver influenciadas por el ambiente en el que se desarrollen (Fuxa, 2004). Los baculovirus juegan un papel importante en el control de poblaciones naturales de insectos. Además de controlar poblaciones de insectos plagas de bosques, también son importantes al controlar plagas agrícolas (Rohrmann, 2008; Chaparro-Rodríguez, 2008; Szewczyk *et al.*, 2006; Ono *et al.*, 2018).

La familia Baculoviridae es la más numerosa de todos los grupos de virus patógenos de insectos. Esta familia posee un estrecho intervalo de hospederos y una elevada patogenicidad y virulencia (Hunter-Fujita *et al.*, 1998). Los baculovirus tienen forma de bastón con tamaño aproximado de 50 x 250 nm. Tienen genoma de ADN circular de doble cadena, que varía en tamaño de 88 a 200 mil pares de bases (Kpb) y oscila entre 50 y 100 millones de Daltons (Thézé *et al.*, 2018). El ADN está encerrado en una cubierta proteica, denominada cápside que tiene forma de bastón. La cápside a su vez está cubierta por una membrana denominada envoltura. Cuando la cápside con el ADN está envuelta por la membrana, se denomina nucleocápside o virión. Los viriones pueden estar a su vez embebidos en una matriz proteica constituida por polímeros de la proteína poliedrina. En este caso, dicho complejo se llama cuerpo de oclusión (IJkel, 2001; Duarte-daCosta *et al.*, 2019). Los baculovirus se replican dentro del núcleo de las células hospedero y se conocen más de 300 aislados obtenidos principalmente de los Órdenes de insectos: Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera y Coleoptera.

También se han encontrado baculovirus en invertebrados de las Clases Malacostraca y Arachnida (Costa-Ramos *et al.*, 2019).

La familia consta de cuatro géneros: *Alphabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para lepidópteros, *Betabaculovirus*, que comprende los granulovirus específicos también para lepidópteros, *Gammabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para himenópteros fitófagos y *Deltabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para dípteros (Jehle *et al.* 2006). El comité internacional de taxonomía de virus (ICTV por sus siglas en inglés) (2009) reporta 54 especies de nucleopoliedrovirus (Harrison *et al.*, 2018).

1.8.2. Estructura y composición

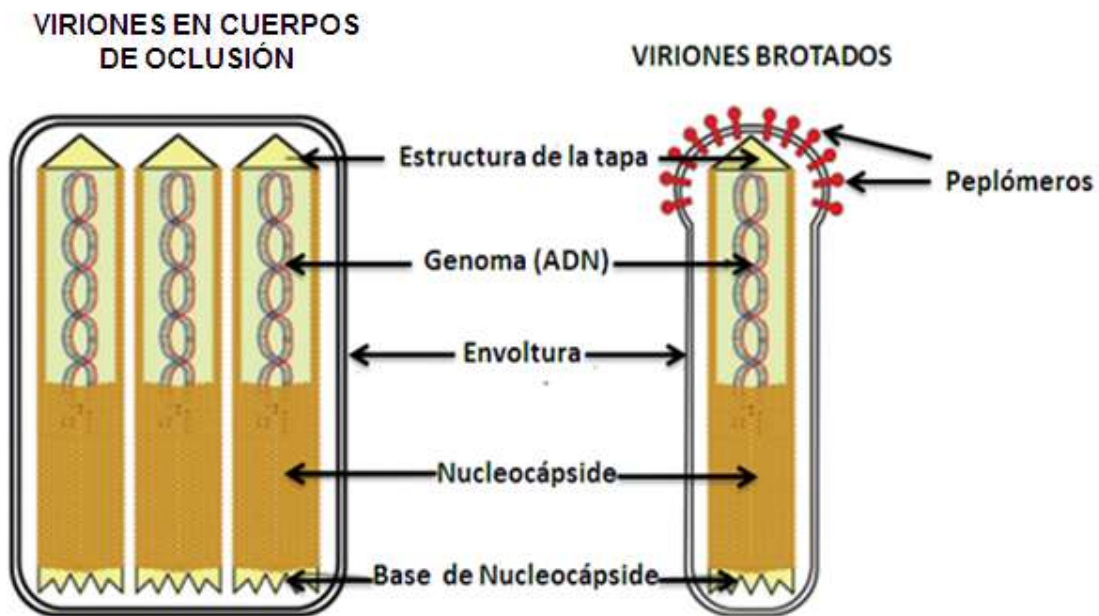


Figura 5. Diagrama de dos fenotipos de viriones de baculovirus (modificado de Harrison *et al.*, 2018).

1.8.2.1. Nucleocápsida

Es una estructura que consiste en una vaina o cápside cilíndrica (Figura 5), con una serie de anillos apilados perpendicularmente que están formados por un número constante de subunidades proteicas, tapada en ambos extremos (base y tapa). En su interior se encuentra el ADN genómico enrollado y condensado, el cual contiene entre 100 y 200 genes. La nucleocápside tiene la función de transportar la información genética del virus, en una forma altamente compactada, al interior de las células de hospedero (Vialard *et al.*, 1995; Zhao *et al.*, 2019).

1.8.2.2. Envoltura o membrana

La envoltura de las nucleocápsidas es lipoproteica cuyo origen y composición de proteínas, lípidos y ácidos grasos difiere entre los fenotipos baculovirales: viriones brotados (BV) o viriones derivados de cuerpos de oclusión (ODV) y les confiere selectividad de infección. Los BV adquieren la envoltura por gemación, de la membrana plasmática de la célula infectada y presentan en la misma dos proteínas mayoritarias: la glicoproteína GP64 y la proteína de fusión F, las cuales se ubican en un extremo del virión que se denomina peplómero (Rohrmann, 2008; Shrestha *et al.*, 2018).

1.8.2.3. Viriones

Los viriones son unos de los principales elementos infecciosos de los baculovirus, tanto en la dispersión del virus entre los individuos de una población como en los tejidos y órganos de un mismo hospedero. El virión maduro se forma cuando este adquiere una membrana compuesta por dos capas de proteínas y una de lípidos, lo que le confiere una apariencia trilaminar (Rohrmann, 2008; Shrestha *et al.*, 2018).

1.8.2.4. Cuerpos de oclusión

Los baculovirus se caracterizan por sintetizar cantidades muy altas de proteínas al final del proceso infeccioso, las cuales se cristalizan formando una matriz o cuerpo de oclusión (OBs) con forma de gránulo para los granulovirus y de

poliedro para los poliedrovirus. Los OBs son solubles en soluciones alcalinas, como las que se producen en el tubo digestivo de algunos insectos (pH 9 - 11), lo que facilita la liberación de los viriones a partir de los OBs para que puedan iniciar una infección. Las proteínas en OBs de los NPVs son las poliedrinas, mientras que las proteínas en OBs de los GVs son las granulinas (Bianchi, 2001; Tsukui *et al.*, 2019).

1.8.2.5. Ciclo y sintomatología de infección viral

Las larvas del insecto consumen los OBs, los cuales se disuelven en el intestino medio, liberando los ODV. Una vez liberados, los viriones atraviesan la membrana peritrófica del intestino y se unen a las células epiteliales del intestino medio. Después las nucleocápsides se dirigen al núcleo, donde comienza la transcripción viral. Se da la formación de nuevas partículas virales y son transportadas a través de la hemolinfa diseminando la infección a los demás tejidos, proceso conocido como infección secundaria (Thézé *et al.*, 2018). En las etapas más tardías de la infección, las nucleocápsides son ocluidas en la matriz proteica de poliedrina o granulina, para formar los OBs y ocasionar la muerte de la larva. Una vez infectada, la larva tarda de 5 a 7 días en morir. Las larvas muertas quedan colgadas en la hoja con las patas traseras y toman una coloración grisácea, y una consistencia flácida. Al tocarlas se revientan con facilidad, lo que facilita la dispersión de los cuerpos de oclusión virales en el ambiente. Los OBs pueden ser liberados al ambiente por licuefacción de la larva infectada para comenzar un nuevo ciclo de infección (Faulkner-Boucias *et al.*, 1985; Bonning *et al.*, 2006; Malmstrom, 2018; Chaeychomsri, 2018).

1.9. Generalidades de suelos agrícolas de maíz en Sinaloa

Sinaloa es el principal productor de maíz a nivel nacional; sin embargo, la labranza excesiva y la práctica del monocultivo de maíz por más de 20 años, han ocasionado pérdida de fertilidad del suelo, menor retención de agua e incremento de costos de producción. Los suelos agrícolas del estado de Sinaloa han sido

enormemente perturbados debido a la agricultura intensiva que se realiza aquí (Sifuentes-Ibarra *et al.*, 2018).

Según Morales-Zepeda (2007) el suelo que principalmente es dedicado a la agricultura en el estado de Sinaloa es el suelo vertisol, el cual predomina en las zonas de riego de este estado. Los suelos vertisoles poseen las siguientes características:

- a) Poseen una elevada cantidad de arcillas.
- b) Baja cantidad de materia orgánica.
- c) Estructura generalmente muy gruesa.
- d) Estos suelos pasan por periodos largos de sequías.

1.9.1.1. Factores fisicoquímicos de suelos agrícolas en maíz

1.9.1.1. Textura

El cultivo de maíz requiere de suelos con pendiente menor a 1% y con una profundidad mayor a 50 cm y hasta 1 m. Las texturas más adecuadas son las siguientes: franca, franca-limosa, franca-arcillo-limosa, franca-arcillo-arenosa y franca-arcillosa; es decir, las texturas medias son las idóneas para el maíz. No obstante, esta planta también prospera de manera satisfactoria en otros tipos de textura como las arcillosas si se realizan buenas prácticas de laboreo al suelo (INIFAP, 2017; Tall *et al.*, 2019).

1.9.1.2. Salinidad y pH

Este cultivo es sensible a la salinidad, por lo cual requiere suelos con una conductividad eléctrica menor a 2.7 deciSiemens (dS) para evitar reducción del rendimiento mayor a 10%. El potencial de hidrógeno (pH) óptimo es alrededor de 7 (neutro). Los suelos arcillosos tienden a ser salinos (suelos con pH básico). En el estado de Sinaloa los suelos arcillosos poseen la capacidad de retener elementos químicos como el sodio (Na) y calcio (Ca), los cuales forman carbonatos que

tienden a alcalinizar estos suelos. En cambio, los suelos arenosos y francos no son capaces de retener estos elementos y por lo tanto son lixiviados. El cultivo de maíz, como todas las gramíneas, requiere elevadas cantidades de nitrógeno (N). Por ello es necesario realizar fertilizaciones constantes y en gran cantidad para satisfacer los requerimientos nutricionales del cultivo. La práctica de usar en exceso fertilizantes nitrogenados de origen químico, tienden a alcalinizar los suelos y eliminar la microbiota presente en éstos (INIFAP, 2017).

1.9.1.3. Materia orgánica

La materia orgánica juega un papel muy importante en el buen estado de los suelos agrícolas; favorece a que las partículas del suelo formen agregados y se mejore así la estructura del suelo. Así mismo, la materia orgánica aumenta la capacidad de retener agua y con esto se evita la erosión hídrica. También aporta nutrientes, favorece a la porosidad del suelo y ésta a su vez a la penetración y aireación de las raíces, además de ayudar a la entrada de organismos benéficos (Li *et al.*, 2018; Garratt *et al.*, 2018).

En Sinaloa, la cantidad de materia orgánica en los suelos es menor al 1%, debido al uso de agricultura convencional; excepto en pequeñas propiedades donde se realiza labranza de conservación. Otras malas prácticas que disminuyen la cantidad de materia orgánica en el suelo son empacar la pastura para el ganado y el pastoreo en los suelos agrícolas (INIFAP, 2017).

1.9.1.4. Relación de factores fisicoquímicos de suelos con la persistencia viral

La persistencia de los OBs de los nucleopoliedrovirus fuera del insecto hospedero es determinada por numerosos factores bióticos y abióticos. Dentro de los factores abióticos, se encuentran los factores fisicoquímicos del suelo, siendo los principales la textura, pH y cantidad de materia orgánica (Murillo *et al.*, 2007).

La textura del suelo está determinada por la cantidad de arena, limo y arcilla, siendo estas últimas partículas las que juegan un papel importante en la retención

de los OBs, debido a que poseen la capacidad de adsorber iones y moléculas ya que están cargados por electricidad estática, principalmente por cationes (carga positiva). Con esta capacidad retienen a los OBs a causa de que las proteínas que se encuentran rodeando al virus poseen carga eléctrica negativa (Lipson y Stotzky, 1985).

El pH controla muchas de las actividades químicas y biológicas que ocurren en el suelo. Éste se encuentra regulado por la cantidad de sales que están presentes o no en el suelo. Los suelos básicos o alcalinos afectan de manera directa la persistencia de los virus en campo. Tal como sucede en el intestino medio de algunos lepidópteros, el pH básico (9 - 11) rompe la matriz proteica del OB y libera los viriones, favoreciendo al proceso de infección. Algo similar sucede en los suelos agrícolas alcalinos, se rompe la matriz proteica de los OB y las partículas virales quedan expuestas a diversos factores abióticos (temperatura, luz solar, lluvia) con lo que pueden ser inactivadas, por lo cual el virus no podrá infectar a las larvas de insectos plaga (Murillo *et al.*, 2007).

El pH del ambiente puede influir mucho en la estabilidad y persistencia de los virus de invertebrados. El pH alcalino de las superficies de las hojas de algodón puede inactivar rápidamente los OB de NPV. También, se ha demostrado que la lluvia ácida simulada (pH 3) puede reducir la mortalidad de las larvas de mosca sierra *Diprion pini* (Hymenoptera: Diprionidae) infectadas con baculovirus, las cuales se alimentan del follaje del pino. Este efecto pudo no deberse a un efecto directo del pH sobre el virus, sino probablemente por un cambio mediado por el pH ácido en la calidad del follaje de la planta, lo que mejoró la supervivencia de la larva (Hajek y Shapiro, 2017).

A medida que los OBs se descomponen en presencia de suelos con pH alcalino y liberan viriones, la persistencia de baculovirus en este tipo de suelos es pobre en comparación con suelos de pH neutro o ligeramente ácido (Hajek y Shapiro, 2017). En un estudio sobre SeMNPV aislado de sustratos del suelo en cuatro zonas de invernaderos hortícolas en el sur de España (Murillo *et al.*, 2007), se encontró que el pH del sustrato del suelo varía estacionalmente, con valores

medios de pH en el otoño de 8.6, significativamente más básicos que en otros períodos del año (pH 7.8 - 8.1). Esto probablemente se debió a la aplicación de tratamientos de desinfección de sustratos alcalinos al final del verano. El pH del sustrato del suelo difería entre las zonas de invernadero en esta área, pero más significativamente, la prevalencia de mortalidad en los bioensayos (un indicador de la abundancia de OB de SeMNPV en muestras de sustrato) se correlacionó negativamente con el pH del sustrato. Además, algunos genotipos se asociaron con el sustrato del suelo con un pH más básico y otros se asociaron con un pH más ácido, lo que sugiere que ciertos genotipos pueden resistir mejor las condiciones de pH básico. Finalmente, el pH del sustrato del suelo afectó la probabilidad de aislar un genotipo simple o mixto, lo que sugiere que los sustratos del suelo con pH más ácido albergaban poblaciones de OBs más grandes y más diversas (Murillo *et al.*, 2007).

La combinación del contenido de arcillas y el pH posiblemente son los principales factores ambientales que influyen en la estabilidad de los OBs en los suelos (Evans, 1986). Algunos estudios en laboratorio y en campo muestran la fuerte adsorción de los OBs por las partículas de suelo (Hukahara y Namura, 1971; Hukahara, 1972), lo que explicaría la alta persistencia de los OBs en este sustrato (Jaques, 1985).

La materia orgánica es parte integrante de sistemas terrestres y su efecto en las interacciones entre las partículas del suelo ejerce una profunda influencia en la ecología de la microbiota de estos ambientes. Esto significa que en suelos con mayor cantidad de materia orgánica se propicia la proliferación de la microbiota y entomofauna benéfica (Lipson y Stotzky, 1984).

1.9.2. Efecto del cambio climático sobre los factores ambientales

El clima es el resultado de la interacción de la radiación solar, órbita terrestre, latitud, composición atmosférica, corrientes oceánicas y efectos antropogénicos (Díaz-Cordero, 2012; Helwegen *et al.*, 2019). El cambio climático ocupa hoy uno de los primeros lugares entre los problemas que afectan a la

humanidad por sus efectos ambientales y sobre todo, porque su principal determinante es el incremento de los gases de efecto invernadero (CO₂, CH₄, N₂O, O₃) resultantes de las actividades humanas. La actividad antropogénica es la responsable de la aceleración del cambio climático, por la rotura de muchos equilibrios biológicos. A pesar del escaso efecto invernadero de los compuestos habituales de la atmósfera (nitrógeno: 78%) y (oxígeno: 21%) las actividades humanas (industria, generación de energía con combustibles fósiles, transporte, agricultura, deforestación etc.), aumentan los Gases de Efecto Invernadero (GEI), produciendo el calentamiento de la tierra (Useros-Fernández, 2013; Rudebusch, 2019).

La aceleración del cambio climático en las últimas décadas, resultado del incremento de gases de efecto invernadero producidos por el uso de combustibles fósiles, es una realidad que amenaza gravemente a distintos ecosistemas (Díaz-Cordero, 2012; Williamson *et al.*, 2018). El incremento de la temperatura global ocasionada por el efecto invernadero es responsable del aumento del nivel del mar, de la disminución de las capas de nieve y hielo así como del cambio de tendencia en las precipitaciones. Todo ello afectará a los sistemas hidrológicos, a los sistemas biológicos marinos y de agua dulce, y a la productividad agrícola y forestal (Ojeda-Bustamante *et al.*, 2011; Hoegh-Guldberg *et al.*, 2018).

La radiación solar es el elemento determinante de la temperatura terrestre y el motor de todos los fenómenos atmosféricos (Useros-Fernández, 2013; Helweggen *et al.*, 2019). El clima y el ciclo hidrológico están estrechamente vinculados; de tal manera que el incremento de temperatura y la variación en la precipitación esperados en los escenarios más probables de cambio climático tendrán un impacto importante en la disponibilidad de los recursos hídricos del mundo y de México en particular. En nuestro país, los efectos esperados del cambio climático serán un incremento importante de temperaturas (superior a 3 °C) y una disminución en la precipitación (superior al 15% en promedio nacional anual) (Martínez y Patiño, 2012).

Debido al impacto del cambio climático la modificación de los componentes del ciclo hidrológico, principalmente la evapotranspiración y la precipitación, tendrá un efecto radical en las demandas de riego y en la gestión de los sistemas de riego. Las proyecciones del cambio climático indican un incremento de la temperatura ambiental, con variabilidad en el espacio y en el tiempo. Todos los efectos provocados por el calentamiento global tendrán repercusiones en la agricultura en todo el mundo. Se visualiza que en unas pocas décadas más, se tendrán que diseñar nuevas técnicas de cultivo, se moverán las fechas de siembra, se utilizarán cultivos que no sean tan demandantes de agua y se usarán más sistemas de agricultura protegida donde se pueda controlar las temperaturas (Ojeda-Bustamante *et al.*, 2012).

El cambio climático ocasiona impactos directos e indirectos en los ecosistemas terrestres, en la superficie y bajo el suelo. En la superficie, los efectos del cambio global serán en gran medida directos: El CO₂ atmosférico será elevado, así como los cambios en la temperatura, la precipitación y la disponibilidad de nitrógeno cambiarán la abundancia de especies de plantas. Los cambios en el clima y la precipitación influirán en nuestra elección de especies a cultivar y la producción, lo que a su vez influirá en las decisiones de manejo para el riego, fertilización y dinámica de los patógenos. Indirectamente se alterará aún más la comunidad microbiana subterránea (Balser *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2019).

Las respuestas de las plantas afectan el tipo y la cantidad de carbono que ingresa al sistema del suelo, así como la arquitectura física de la zona radical de la planta. Esto tiene un impacto indirecto en la composición de la comunidad microbiana. El agua, la temperatura y el nitrógeno tienen efectos directamente en la comunidad microbiana a medida que los organismos responden a la temperatura o estrés por sequía (Balser *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2019).

Los microorganismos del suelo, que intervienen en el ciclo del carbono y el nitrógeno, son impulsores clave de los procesos biogeoquímicos en los ecosistemas terrestres y desempeñan un papel vital en estos ciclos. La temperatura es un factor limitante clave para el metabolismo microbiano. Los

cambios en la temperatura pueden afectar el crecimiento microbiano y conducir a cambios en la estructura y composición de la comunidad microbiana, la tasa de descomposición y las actividades enzimáticas. Los microorganismos del suelo pueden ajustar la composición de su comunidad o alterar sus estrategias de utilización de carbono para adaptarse al calentamiento. En las regiones más frías, el calentamiento tiene especialmente un mayor impacto en la abundancia microbiana que en las regiones cálidas (Classen *et al.*, 2015).

Las variaciones en las funciones microbianas en respuesta a los cambios en las condiciones ambientales se determinan comúnmente mediante ensayos de actividad enzimática del suelo porque ésta indica un cambio en la estructura de la comunidad microbiana y la demanda de nutrientes (Song *et al.*, 2019).

1.9.2.1. Relación de los factores ambientales sobre la persistencia viral

La persistencia de los OBs en el ambiente se ve afectada principalmente por los factores ambientales. El factor ambiental que ha atraído la mayor atención es la radiación solar UV. La persistencia viral está relacionada inversamente con este factor (Burges, 1998; Behle *et al.*, 2000; Lacey y Arthurs, 2005; Villamizar *et al.*, 2009; Behle y Pophman 2012) y la temperatura (Young, 2001; Sporleder *et al.*, 2008; Michalsky *et al.*, 2008; Roberts *et al.*, 2011).

Esto se debe a que los rayos UV inactivan rápidamente los virus aplicados a las plantas como insecticidas biológicos, lo que limita su efectividad para el control de plagas. Como tal, la infectividad de los virus ocluidos expuestos a la luz solar directa a menudo se puede medir en términos de horas (Sajap *et al.*, 2007). De esta forma, sólo una pequeña fracción del inóculo original permanece viable unos días después de su aplicación como insecticida biológico (Sun *et al.*, 2004). Los restos de cadáveres infectados proporcionan protección contra la degradación de los rayos UV, por lo que los OB liberados por los cadáveres persisten aproximadamente el doble de tiempo que los purificados (Fuller *et al.*, 2012). En contraste, aproximadamente el 50% de los OBs aplicados a plantas cultivadas bajo estructuras protectoras contra rayos ultravioleta como los invernaderos de

plástico, aún pueden ser viables una semana después de la aplicación inicial (Lassa *et al.*, 2007).

La exposición a los rayos UV solares es más alta en las regiones tropicales y grandes altitudes, y disminuye conforme aumenta la latitud. Las regiones templadas también experimentan cambios estacionales marcados en la radiación UV. Las longitudes de onda entre 280 - 315 nm que llegan a la superficie de la tierra, son las más dañinas para los sistemas biológicos. Estas radiaciones pueden causar rupturas en las cadenas de ácidos nucleicos, o más frecuentemente, de fusionar bases (dímeros) de timina en el ADN, lo cual a menudo produce mutaciones. En los virus con un genoma de dsRNA, los dímeros de uracilo también pueden acumularse como resultado de la radiación UV (Hajek y Shapiro, 2017).

De los virus ocluidos, los entomopoxvirus se clasificaron como resistentes a los rayos UV-B en condiciones de laboratorio y los GV fueron los más sensibles a la inactivación de los rayos UV-B, mientras que los NPV y los cytoviruses tuvieron una susceptibilidad intermedia (Ignoffo *et al.*, 1997). La luz con una longitud de onda más larga y una energía más baja, como los rayos UV-A (315-400 nm) y la luz visible, también pueden inactivar los virus en períodos de exposición prolongados (Shapiro y Domek, 2002).

Para OBs que se localizan en el follaje de plantas, tallos o cortezas, el grado de sombreado proporcionado por las capas superiores de follaje o plantas adyacentes reducirá la exposición a los rayos solares UV (Jaques, 1985). En consecuencia, los OBs del follaje en las partes media o inferior de la planta recibirán una dosis más baja de UV y tenderán a persistir más tiempo que los de la parte superior. Por ejemplo, la densidad de OBs fue significativamente más alta en las partes inferiores de plantas de soya (*Glycine max*) y pinos (*Pinus cortata*) que estaban protegidos de la luz solar directa por el follaje superior, en comparación con la parte superior y media de las plantas (Richards *et al.*, 1999). Los OBs persisten por más tiempo en la parte inferior de las hojas de algodón (*Gossypium*

spp.), repollo (*Brassica oleracea*) y soya en comparación con las superficies superiores (Richards *et al.*, 1999).

Se ha demostrado que a temperaturas cercanas a los 50 °C los virus pierden patogenicidad contra los insectos (Camacho *et al.*, 2013). Jaques (1985) y Ouellette *et al.* (2010), han resumido la influencia de la temperatura en la estabilidad de los virus ocluidos. A temperaturas ambientales normales (10 - 40 °C), los virus ocluidos generalmente pueden retener la infectividad durante semanas, meses o incluso años (David y Gardiner, 1967). Sin embargo, la influencia de otros factores ambientales como diferentes niveles de humedad y la presencia de contaminantes como enzimas y otros microorganismos han dificultado interpretar la importancia de la temperatura. La exposición a temperaturas elevadas (60 °C) da como resultado la pérdida de infectividad en pocos minutos (Ribeiro y Pavan, 1994).

Por otra parte, la lluvia se encarga de lavar las hojas que contienen OBs y cadáveres de insectos contaminados con virus. El suelo es el destino final de los OBs y son llevados de nuevo hacia al follaje de las plantas por el salpiqueo de las gotas de lluvia, el viento y otros artrópodos. De esta manera se da la infección natural por virus en insectos plaga en campo. Por ello, las precipitaciones juegan un papel importante en el ciclo de infección de los virus en el ambiente (Murillo *et al.*, 2007).

1. 10. Usos de los baculovirus

El principal uso que se le dió a los baculovirus fue el de biocontrol de plagas agrícolas en muchos países, contra diferentes especies y en diversos cultivos (Gani *et al.*, 2017). Esto se debe a que pueden controlar de manera eficaz y segura a dichos insectos (Afolami y Oladunmoye, 2017). En las Islas Canarias, Simón *et al.* (2015) determinaron la sobresaliente eficacia de un alfabaculovirus en el control de larvas de *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivo de tomate y plátano y su potencial como agente de control biológico. Tal fue el éxito, que plantearon elaborar un bioinsecticida con este virus. Del mismo modo,

Del Ángel *et al.* (2018), evaluaron la capacidad insecticida del nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivo de soya en Tamaulipas, México. Usaron 5 variantes genotípicas evaluadas individualmente y una mezcla de 30 aislados de campo contra larvas de *A. gemmatalis*, siendo estos últimos los que mostraron mayor patogenicidad y virulencia.

Por otra parte, los baculovirus poseen la capacidad de expresar altos niveles de proteínas, por ello han sido utilizados para la producción de proteínas recombinantes en células de insectos (Sf9, células de *S. frugiperda*) durante varios años y se ha venido mejorando con el uso de nuevas técnicas (Wu *et al.*, 2018). Actualmente, existe una generación de baculovirus recombinantes, los cuales se utilizan para la producción de proteínas recombinantes producidas por sistemas de vectores de expresión basados en baculovirus, o BEVS (Baculovirus Expression Vector Systems, por sus siglas en inglés), mismas que están disponibles y reguladas por protocolos de bioseguridad en diversos países (Ono *et al.*, 2018).

Se ha demostrado que los baculovirus modificados por ingeniería genética son una herramienta muy útil para la expresión de genes y terapia génica (Ono *et al.*, 2018). Los baculovirus poseen la capacidad de expresar transgenes en varias células de mamíferos y se han aplicado a la terapia contra el cáncer para la supresión efectiva del desarrollo tumoral (Goswami *et al.*, 2019). Los baculovirus se han utilizado como un vector de toxina que expresa la toxina diftérica A para eliminar las células malignas de glioma en el cerebro. También se han empleado como un vector de toxina que expresa la timidina quinasa del virus del herpes simple que media la muerte celular desencadenada en presencia de ganciclovir para eliminar glioblastoma (Ono *et al.*, 2018).

1.11. LITERATURA CITADA

- Abbas, A., R. G. Luttrell, H. N. Pitre, y F. M. Davis. 1989. Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses on cotton. *Environmental Entomology*. 18: 881-885.
- Afolami, O. y M. Oladunmoye. 2017. Baculoviruses: Emerging Frontiers for Viral Biocontrol of Insect Pests of Agricultural Importance. *Journal of Advances in Microbiology*. 5: 1-7.
- Alarcón, P., M. Olivo, y L. Solís. 2001. Diversidad gastronómica de los pueblos indios de México. *Etnoecológica*. 6: 100-102.
- All, J. N. 1988. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestations in no-tillage cropping systems. *Florida Entomologist*. 71: 268-272.
- Andrews, K. L. 1988. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*. 71: 630-653.
- Arifie, U., P. Bano., I. Ahad., P. Singh., Z. Ahmad-Dar., Z. Badri., S. Maqbool., S. Aafreen, y R. Kumar. 2019. Insect pest of maize at different altitudes of north Kashmir, J&K. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 7: 113-128.
- Armenta, R., A. M. Martínez, J. W. Chapman, R. D. Magallanes, P. Goulson, R. Caballero, D. Cave, J. Cisneros, J. Valle, V. Castillejos, D. I. Penagos, F. García, y T. Williams. 2003. Impact of a nucleopolyhedrovirus bioinsecticide and selected synthetic insecticides on the abundance of insect natural enemies on maize in southern Mexico. 96: 649-661.
- Badii, M. H. y J. L. Abreu. 2006. Control biológico, una forma sustentable de control de plagas. *Internacional Journal of Good Conscience*. 1: 82-89.
- Bahena-Juárez, F. y E. Cortez-Mondaca. 2015. Gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). pp. 181-250. *In: Arredondo-Bernal H.C. and L.A. Rodríguez-Del Bosque (Eds.). Casos de*

Control Biológico en México. Vol. 2. Biblioteca Básica de Agricultura. México.

- Balser, T., J. Gutknecht, y C. Liang. 2010. How Will Climate Change Impact Soil Microbial Communities? In: Soil Microbiology and Sustainable Crop Production. G.R. Dixon and E.L. Tilston (eds.). Springer. pp. 373- 397.
- Bautista, M. N. 2006. Insectos plaga. Una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados. Estado de México, México. 113 p.
- Behle, R. y H. Popham. 2012. Laboratory and field evaluations of the efficacy of a fast-killing baculovirus isolate from *Spodoptera frugiperda*. Journal of Invertebrate Pathology. 109: 194-200.
- Behle, R., P. Tamez-Guerra, y M. Mcguire. 2000. Effect of Light Energy on Alkali-Released Virions from *Anagrapha falcifera* Nucleopolyhedrovirus. Journal of Invertebrate Pathology. 76. 120-126.
- Bernal J. S. 2007. Biología, Ecología y Etología de Parasitoides. In: Rodríguez-del-Bosque L.A., Arredondo-Bernal H. C (eds). Teoría y Aplicación del Control Biológico. 13: 61-74.
- Bianchi. F. J. 2001. Process-based modeling of the control of beet armyworm, *Spodoptera exigua*, with baculoviruses in greenhouse chrysanthemum. Wageningen Universiteit. 143 p.
- Bonning, B., K. Maramorosch, y Shatkin. 2006. Insect viruses: Biotechnological applications. Advances in virus research. Elsevier. 502 p.
- Borbolla, I. S. 1981. Estudio comparativo de insecticidas a diferentes dosis y número de aplicaciones para el control del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en el maíz temporal. Agronomía en Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa. 1: 21-30.

- Botha, A., A. Erasmus., H. du Plessis, y J. Van den Berg. 2019. Efficacy of Bt Maize for Control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. *Journal of Economic Entomology*. 112: 1260–1266.
- Burges, H. 1998. Formulation of microbial biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic Publishers. Holanda. 412 p.
- Camacho, J., M. Gómez, y L. Villamizar. 2013. Efecto de la temperatura y de dos procesos de secado sobre la actividad insecticida de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 12: 437-450.
- Camacho-Báez J., C. García-Gutiérrez., M. Mundo-Ocampo., A. Armenta-Bojórquez., E. Nava-Pérez., J. Valenzuela-Hernández, y U. González-Buitrón. 2012. Enemigos naturales de las moscas de los estigmas del maíz: *Euxesta stigmatias* (Loew), *Chaetopsis massyla* (Walker) y *Eumecosomyia nubila* (Wiedemann) en Guasave, Sinaloa, México. *Ra Ximhai*. 8: 71-77.
- Carrillo-Sánchez, J. 1993. Síntesis del control biológico de *Heliothis* spp., y *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en México. *Folia Entomológica Mexicana*. 87: 85-93.
- Carzoli, A., S. Aboobucker., L. Sandall., T. Lübberstedt, y W. Suza. 2018. Risks and opportunities of GM crops: Bt maize example. *Global Food Security*. Elsevier. 19: 84- 91.
- Castiglioni, E., C. Perini., W. Chiaravalle., J. Arnemann., G. Ugalde y J. Guedes, 2016. Primer registro de ocurrencia de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) en soja, en Uruguay. *Agrociencia Uruguay*. 20: 31-35.

- Cave, R. D. 1993. Parasitoides larvales y pupales de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en Centro América con una clave para las especies encontradas en Honduras. *Ceiba*. 34: 33-56.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en campo. Cuarta edición. México, D. F.
- CESAVEG. 2012. Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato. Manual de plagas y enfermedades del Maíz. Campana de Manejo Fitosanitario de Maíz. Disponible en: <http://www.cesaveg.org.mx/2012/folletos12manualmaíz.pdf>
- Chaeychomsri, S. 2018. Replication and Occlusion Body Formation of *Spodoptera exigua* Multicapsid Nucleopolyhedrovirus in a Homologous Cell Line. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*. 5: 236-244.
- Chaparro-Rodríguez, M. 2008. Efecto de dos formulaciones en la fotoestabilidad y eficacia de un granulovirus para el control de *Tecia solanivora*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Microbiología Industrial. Colombia. 111 p.
- Chapman, J. W., T. Williams, A. Escibano, P. Caballero, y R. D. Cave. 1999. Age-related cannibalism and horizontal transmission of a nuclear polyhedrosis virus in larval *Spodoptera frugiperda*. *Ecology of Entomology*. 24: 268-275.
- Chinaru-Nwosu, L. 2018. Maize and the maize weevil: advances and innovations in postharvest control of the pest. *Food Quality and Safety*. 20. 1-8.
- Classen, A., M. Sundqvist., J. Henning., G. Newman., J. Moore., M. Cregger., L. Moorhead, y C. Patterson. 2015. Direct and indirect effects of climate change on soil microbial and soil microbial-plant interactions: What lies ahead?. *Ecosphere*. 6: 1-22.
- Cordova-Kreylos, A. L. Fernandez., M. Kolvunen., A. Yang., L. Flor-Weller, y P. Marrone. 2013. Isolation and characterization of *Burkholderia rinojensis* sp.

- Nov., a non-*Burkholderia cepacia* complex soil bacterium with insecticidal and miticidal activities. *Applied and Environmental Microbiology*. 79: 7669-7678.
- Cortez-Mondaca, E., I. Armenta-Cárdenas, y F. Bahena-Juárez. 2010. Porcentaje de parasitismo sobre el gusano cogollero (Lepidoptera: Noctuidae) en el sur de Sonora, México. *Southwestern Entomologist*. 35: 199-203.
- Costa-Ramos, A., R. Santos-de Lemos., V. Costa., A. González-Peronti, y E. da Silva. 2019. Hymenopteran parasitoids associated with scale insects (Hemiptera: Coccoidea) in tropical fruit trees in the Eastern Amazon, Brazil. *Florida Entomologist*. 102: 273-278.
- David, W. y B. Gardiner. 1966. Persistence of a granulosis virus of *Pieris brassicae* on cabbage leaves. *Journal of Invertebrate Pathology*. 8: 180-183.
- Del Rincón, M.C., J. Méndez, y J. Ibarra. 2006. Calendarización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Folia Entomológica de México*. 45: 157-164.
- Del-Ángel, C., R. Lasa., L. Rodríguez-del-Bosque., G. Mercado., I. Beperet., P. Caballero, y T. Williams. 2018. *Anticarsia gemmatalis* Nucleopolyhedrovirus from Soybean Crops in Tamaulipas, Mexico: Diversity and Insecticidal Characteristics of Individual Variants and their Co-Occluded Mixtures. *Florida Entomologist*. 101: 404-410.
- Deshmunkh, S., C. Kalleshwaraswamy, y M. Maruthi. 2018. Biology of invasive fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on maize. *Indian Journal of Entomology*. 80: 540-543.
- Díaz-Cordero, G. 2012. El cambio climático. *Ciencia y Sociedad*. 37: 227-240.

- Dindo, M. y S. Nakamura. 2018. Oviposition strategies of Tachinid parasitoids: Two Exorista species as case studies. *International Journal of Insect Science*. 6: 1-10.
- Du Plessis, H., J. Van-derBerg., N. Ota, y D. Kriticos. 2018. *Spodoptera frugiperda* (Fall Armyworm) Background information. *Pest Geography*. 45: 1-8.
- Duarte-daCosta, V., M. Alvarenga-Soares., F. Rodríguez-Dimate., V. Mendes-deSá., J. Cola-Zanuncio, y F. Hercos-Valicente. 2019. Genetic identification and biological characterization of Baculovirus isolated from *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Florida Entomologist*. 102: 59-64.
- Esteva, G. 2003. Los árboles de las culturas mexicanas. En: Esteva, G, y C. Marielle (Eds). Sin Maíz no hay país. Museo Nacional de las Culturas Populares. Distrito Federal, México. 346 p.
- Evans, H. F. 1986. Ecology and epizootiology of baculovirus. CRC Press. Florida, Estados Unidos de América. pp. 89-132.
- FAO, 2018. Briefing note on fall armyworm (FAW) in Africa. 16 February 2018, 7 p.
- Faulkner, P., D. Boucias, D. 1985. Genetic improvement of insect pathogens: Emphasis on the use of Baculoviruses. Academic Press Inc.: 263-281.
- Fernández-Suárez, R., L. Morales-Chávez, y A. Gálvez-Mariscal. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional, una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36: 275-283.
- Fotso-Kuate, A., R. Hanna., A. Doumtsop-Fotio., A. Fomumbod-Abang., S. Nanga-Nanga., S. Ngatat., M. Tindo., C. Masso., R. Ndemah., C. Suh, y K. Mokpokpo-Fiaboe. 2019. *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) in Cameroon: Case study on its distribution, damage, pesticide use, genetic differentiation and host plants. *Plos one*. 14: 1-18.

- Fuller, E., B. Elderd, y G. Dwyer. 2012. Pathogen persistence in the environment and insect-baculovirus interactions: disease-density thresholds, epidemic burnout and insect outbreaks. *American Naturalist*. 179: 70-96.
- Fuxa, J. R. 1991. Insect control with baculoviruses. *Biotechnology Advances*. 9: 425–442.
- Fuxa, J. 2004. Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 103: 27-43.
- Fuxa, J.R. y A. R. Richter. 2001. Quantification of soil-to-plant transport of recombinant nucleopolyhedrovirus: effects of soil type and moisture, air currents, and precipitation. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 5166–5170.
- Gani, M., S. Chouhan., Babulal., R. Gupta., G. Khan., N. Bharath., P. Saini, y M. Ghosi. 2017. *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (*BmBPV*): Its impact on silkworm rearing and management strategies. *Journal of Biological Control*. 31: 189-193.
- García-Banderas, D. 2016. Actividad biológica de tres nucleopoliedrovirus sobre distintas poblaciones mexicanas del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Morelia, Michoacán, México. 69 p.
- García-Gutiérrez C., M. B. González-Maldonado, y E. Cortez-Mondaca. 2012. Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. *Ra Ximhai*. 8: 57-70.
- García-Gutiérrez, C., M. B. González-Maldonado, y A. González-Hernández. 2013. Parasitismo natural de Braconidae e Ichneumonidae (Hymenoptera) sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 39: 211-215.

- García-Lara, S., C. Espinosa-Carrillo, y D. J. Bergvinson. 2007. Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control. México, D.F. CIMMYT. 55 p.
- Garratt, M., R. Bommarco., D. Kleijin., E. Martin., S. Mortimer., S. Redlich., D. Senepahi., I. Steffan., S. Switek., V. Takács., S. van Gils., W. van der Putten, y S. Potts. 2018. Enhancing Soil Organic Matter as a Route to the Ecological Intensification of European Arable Systems. *Ecosystems*. 21: 1404-1415.
- Ghosal, A. 2018. Mode of action of insecticides. Applied Entomology and Zoology. AkiNik Publications. India. 128 p.
- Godfray, H. C. 1994. Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press. New Jersey, Estados Unidos de América. 473 p.
- Goergen G., P. Kumar, P., S. Sankung S., A. Togola, y M. Tamó. 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. *PloS one*. 11: 1-9.
- González, M. M., G. C. García, y H. A. González. 2014. Parasitismo y distribución de *Campoletis sonorensis* Cameron (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), parasitoides del gusano cogollero en maíz en Durango, México. *Vedalia*. 15: 47-53.
- González-Maldonado, M., D. Hernández-Zetina, y E. Ruiz-Cancino. 2018. Parasitoids (Diptera: Tachinidae) of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in maize in Durango, México. *Southwestern entomologist*. 43: 183-187.
- Goswami, R., G. Subramanian., L. Silayeva., I. Newkirk., D. Doctor., K. Chawla., S. Chattopadhyay., D. Chandra., N. Chilukuri, y V. Betapudi. 2019. Gene Therapy Leaves a Vicious Cycle. *Frontiers in Oncology*. 9: 1-25.

- Guacho-Abarca, E. 2014. Caracterización agro-morfológica del maíz (*Zea mays* L.) de la localidad San José de Chazo. Tesis. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. 100 p.
- Gutiérrez-Ramírez, A., A. Robles-Bermúdez, J. Cambero-Campos, C. Santillán-Ortega, M. Ortiz-Catón, J. M. Coronado-Blanco, y M. Campos-Figueroa. 2015. Parasitoides de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) encontrados en Nayarit, México. *Southwestern Entomologist*. 40: 555-564.
- Hajek, E. y Shapiro, D. 2017. *Ecology of Invertebrate Diseases*. Wiley. New Jersey, Estados Unidos de América. 646 p.
- Harrison, R., C. Thierfelder., F. Baudron., P. Chinwada., C. Midega., U. Schaffner, y J. VandenBerg. 2019. Agro-ecological options for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) management: providing low-cost, smallholder friendly solutions to an invasive pest. *Journal of Environmental Management*. 243: 318-330.
- Harrison, R., E. Herniou., J. Jehle., D. Theilmann., J. Burand., J. Becnel., P. Krell., M. van Oers., J. Mowery., G. Bauchan, y ICTV Report Consortium. 2018. ICTV Virus Taxonomy Profile: Baculoviridae. *Journal of General Virology*. 99: 1185–1186.
- Hassan-Askary, T y M. Jamal-Ahmad. 2017. Entomopathogenic nematodes: mass production, formulation and application. *Biocontrol Agents: Entomopathogenic and Slug Parasitic Nematodes*. En: *Biocontrol Agents: Entomopathogenic and Slug Parasitic Nematodes*. CAB International, Wallingford, Reino Unido. pp. 261-286.
- Helweggen, K., C. Wieners., J. Frank, y H. Dijkstra. 2019. Complementing CO₂ emission reduction by solar radiation management might strongly enhance future welfare. *Earth System Dynamics*. 10. 453–472.
- Hernández, M. J., B. E. López., G. E. Garza, y P. N. Mayek. 2008. Spatial distribution of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize

- landraces grown in Colima, México. *International Journal of Tropical Insect Science*. 28: 126-129.
- Hernández-Trejo, A., E. Osorio-Hernández., J. López-Santillán., C. Ríos-Velasco., S. Varela-Fuentes, y R. Rodríguez-Herrera. 2017. Insectos benéficos asociados al control del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo del maíz (*Zea mays* L.). *Agroproductividad*. 11: 9-14.
- Hoballah M.E., T. Degen., D. Bergvinson., A. Savidan., C. Tamó, y T. C. Turlings. 2004. Occurrence and direct control potential of parasitoids and predators of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on maize in the subtropical lowlands of México. *Agricultural and Forest Entomology*. 6: 83-88.
- Hochberg, M.E., 1989. The potential role of pathogens in biological control. *Nature*. 337: 262–265.
- Hoegh-Guldberg, O., Jacob, D, y M. Taylor. 2018. Impacts of 1.5 °C of Global Warming on Natural and Human Systems. s. In: *Global Warming of 1.5 °C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5 °C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty*. Intergovernmental Panel on Climate Change.pp. 175-312.
- Hukahara, T. 1972. Demostration of polyhedra and capsules in soil with scanning electron microscopes. *Journal of Invertebrate Pathology*. 20: 375-376.
- Hukahara, T., y Namura, H. 1971. Microscopic demonstration of polyhedral in soil. *Journal of Invertebrate Pathology*. 18: 557-561.
- Hunter-Fujita, F., P. Entwistle., H. Evans, y N. Crook. 1998. *Insect viruses and pest management*. Wiley, Chichester, Reino Unido. 632 p.

- Ignoffo, C., C. García, y S. Saathoff. 1997. Sunlight stability and rain-fastness of formulations of baculovirus *Heliothis*. *Environmental Entomology* 26: 1470-1474.
- IJkel, W. F. 2001. The genome of *Spodoptera exigua* multicapsid nucleopolyhedrovirus a study on unique features. Thesis Wageningen University. 150 p.
- INIFAP. 2017. Agenda Técnica Agrícola de Sinaloa. México. 216 p.
- Jaques, R. 1964. The persistence of a nuclear-polyhedrosis virus in soil. *Journal of Insect Pathology*. 6: 251–254.
- Jaques, R. 1974. Occurrence and accumulation of viruses of *Trichoplusia ni* in treated field tests. *Journal of Invertebrate Pathology*. 23: 140–152.
- Jaques, R. 1985. Stability of insect viruses in the environment, in: Maramorosch, K., Sherman, K. (eds.). *Viral Insecticides for Biological Control*. Academic Press, New York. Estados Unidos de América. pp. 285-360.
- Jehle, J., G. Blissard., B. Bonning., J. Cory., E. Herniou., Rohrmann., D. Theilman., S. Thiem, y J. Vlask. 2006. On the classification and nomenclature of baculovirus: A proposal for revision. *Archives of Virology*. 151: 1257-1266.
- Jourdie, V., E. Virla., H. Murillo., J. M. Bento., T. C. Turlings, y N. Alvarez. 2010. Phylogeography of *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae) and *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae), two primary neotropical parasitoids of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 103: 742-749.
- Kebede, M. y T. Shimalis. 2019. Out-break, Distribution and Management of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith in Africa; The Status and Prospect. *American Journal of Agricultural Research*. 4: 1-16.

- Kumar, A., B. Hari., A. Hussain y M. Shah. 2019. Prospect and present status and of Entomopathogenic Nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Nepal. *Journal of Applied and Advanced Research*. 4: 30-35.
- Lacey, L. y S. Arthurs. 2005. New method for testing solar sensitivity of commercial formulations of the granulovirus of codling moth (*Cydia pomonella*, Tortricidae: Lepidoptera). *Journal of Invertebrate Pathology*. 90: 85-90.
- Lassa, R., C. Ruiz-Portero., M. Alcázar., J. Belda., P. Caballero y T. Williams. 2007. Efficacy of optical brightener formulations of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) as a biological insecticide in greenhouses in southern Spain. *Biological Control*. 89-96.
- León-García, I., E. Rodríguez-Leyva., L. Ortega-Arenas, y J. Solís-Aguilar. 2012. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a insecticidas asociada a césped en Quintana Roo, México. *Agrociencia*. 46: 279-287.
- Li, J., G. Hernández-Ramírez., M. Kiani., S. Quideau., E. Smith., H. Janzen., F. Larney, y D. Puurveen. 2018. Soil organic matter dynamics in long-term temperate agroecosystems: rotation and nutrient addition effects. *Canadian Journal of Soil Science*. 98: 232-245.
- Lipson, S. M. y G. Stotzky. 1984. Effect of proteins on reovirus adsorption to clay minerals. *Applied Environmental Microbiology*. 48: 525–530.
- Lipson, S. M. y G. Stotzky. 1985. Specificity of virus adsorption to clay minerals. *Canadian Journal Microbiology*. 31: 50–53.
- López, M. A. 2010. Cría masiva del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en laboratorio. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. 80 p.

- Lunginbill, P. 1928. The fall armyworm. United State Department Agriculture, Technical Bulletin. 34: 1-91.
- Ma, J., Z. Luo., F. Chen., R. Chen., Q. Zhu, y S. Zhang. 2019. Impacts of Elevated CO₂ Levels on the Soil Bacterial Community in a Natural CO₂-Enhanced Oil Recovery Area. *Diversity*. 11: 1-19.
- Maina, U., I. Galadima., F. Gambo, y D. Zacaria. 2018. A review on the use of the entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6: 27-32.
- Malmstrom, C. 2018. Environmental Virology and Virus Ecology. En: *Advances in Virus Research*. Academic Press. Massachusetts, Estados Unidos de América. 354 p.
- Martínez, A. M., D. Goul son, J. W. Chapman, P. Caballero, R. D. Cave, y T. Williams. 2000. Is it feasible to use optical brightener technology with a baculovirus bioinsecticide for resource-poor maize farmers in Mesoamerica? *Biological Control*. 17: 174-181.
- Martínez-Austria, P. y C. Patiño-Gómez. 2012. Efectos del cambio climático en la disponibilidad del agua. *Tecnologías y Ciencias del Agua*. 3: 5-20.
- Martínez-Damián, M., R. Tellez- Delgado, y J. Mora-Flores. 2018. Maíz blanco y maíz amarillo, sustitutos y complementos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9: 879-885.
- Martínez-Jaime, O., M. Salas-Araiza, y J. Díaz-García. 2018. Curva de crecimiento poblacional de *Spodoptera frugiperda* en maíz en Irapuato, Guanajuato, México. *Agronomía Mesoamericana*. 29: 1-10.
- Meagher, R., R. Nagoshi., C. Stuhl, y E. Mitchell. 2004. Larval development of Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on different cover crop plants. *Florida Entomologist*. 87: 454-460.

- Mesnage, R. y G. Séralini. 2018. Toxicity of pesticides on health and environment. *Frontiers*. 6. 124 pp.
- Michalsky, R., P. Pfromm., P. Czermak., C. Sorensen, y Passarelli, A. L. (2008). Effects of temperature and shear force on infectivity of the baculovirus *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus. *Journal of Virological Methods*. 153: 90-96.
- Milán-Carrillo, J., R. Gutiérrez-Dorado., E. Cuevas-Rodríguez., L. Sánchez-Magaña., J. Rochín-Medina, y C. Reyes-Moreno. 2017. Bebida funcional con potencial antidiabético y antihipertensivo elaborada con maíz azul y frijol negro bioprocesados. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 40: 451-459.
- Mohamed-Aboelhadid, S., S. Mahmoud-Ibrahium., W. Mahmoud-Arafa., L. Nagy-Maahrous., A. Abel-Baki, y A. Anwer-Wahba. 2018. *In vitro* efficacy *Verticillium lecanii* and *Beauveria bassiana* of commercial source against cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 6: 139-147.
- Molina, O. J. J. Hamm, R. Lezama-Gutiérrez, M. López-Edwards, M. González-Ramírez, y A. Pescador-Rubio. 2003. A survey of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) parasitoids in the Mexican states of Michoacán, Colima, Jalisco and Tamaulipas. *Florida Entomologist*. 84: 31-36.
- Monticelli, L., L. Ha., E. Amiens. C. Luo., A. Lavoit., J. Gatti, y N. Desneux. 2018. The preference-performance relationship as a means of classifying parasitoids according to their specialization degree. *Evolutionary Applications*. 12: 1626-1640.
- Morales-Zepeda, F. 2007. El impacto de la biotecnología en la formación de redes institucionales en el sector hortofrutícola de Sinaloa, México. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 187 p.
- Moscardi, F. 1999. Assessment of application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review Entomology*. 44: 257-289.

- Moura-Mascarin, G. y Jaronski. 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal Microbiology and Biotechnology*. 32: 1-26.
- Muntean, S., S. Cernea., G. Morar., M. Duda., D. Vârban., S. Muntean, y C. Moldovan. 2014. *Fitotehnie*. Ed. Risoprint, Cluj-Napoca. Rumania. 95 p.
- Murillo R., D. Muñoz., M. C. Ruíz-Portero., M. D. Alcázar., J.E. Belda; T. Williams, y P. Caballero. 2007. Abundance and genetic structure of nucleopolyhedrovirus populations in greenhouse substrate reservoirs. *Biological Control*. Elsevier. 42. 216-225.
- Nagoshi, R., D. Koffi., K. Agboka., K. Tounou., R. Banerjee., J. Jurat-Fuentes, y R. Meagher. 2017. Comparative molecular analyses of invasive fall armyworm in Togo reveal strong similarities to populations from the eastern United States and the Greater Antilles. *PLoS one*. 12: 1-15.
- Nagoshi, R., P. Silvie., R. Meaghe., J. López, y V. Machado. 2007. Identification and comparison of Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Brazil, Texas, and Florida. *Annals of the Entomological Society of America*. 100: 394-402.
- Nicolai, M. y Zelus, D. 2007. Síntesis del control biológico de *Heliothis* spp. y *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en México. *Folia Entomológica Mexicana*. 87: 85-93.
- Ojeda-Bustamante, W., E. Sifuentes-Ibarra., M. Íñiguez-Covarrubias, y M. Montero- Martínez. 2011. Impacto de del cambio climático en el desarrollo y requerimientos hídricos de los cultivos. *Agrociencia*. 45: 1-11.
- Ojeda-Bustamante, W., E. Sifuentes-Ibarra., A. Rojano-Aguilar, y M. Íñiguez-Covarrubias. 2012. Adaptación de la agricultura de riego ante el cambio climático. En: *Efectos del cambio climático en los recursos hídricos en México*. México. pp. 65-117.

- Olofsson, E., 1988. Environmental persistence of the nuclear-polyhedrosis virus of the European pine sawfly in relation to epizootics in Swedish pine forests. *Journal of Invertebrate Pathology*. 52: 119–129.
- Ono C., T. Okamoto., T. Abe, y Y. Matsuura. 2018. Baculovirus as a Tool for Gene Delivery and Gene Therapy. *Viruses*. 10: 510 p.
- Ordóñez-García, M., C. Ríos-Velasco, D. Berlanga-Reyes, C. Acosta-Muñiz, M. Salas-Marina, y J. Cambero-Campos. 2015. Reporte preeliminar de entomopatógenos del “gusano cogollero” *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Chihuahua, México. *Entomología Mexicana*. 2: 241-246.
- Otim, M., W. Tay., T. Walsh., D. Kanyesigye., S. Adumo., J. Abongosi., S. Stephen-Ochen., J. Julius-Sserumaga., S. Alibu., G. Grace-Abalo., G. Asea, y A. Agona. 2018. Detection of sister species in invasive populations of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) from Uganda. *PLoS One*. 13: 1-18.
- Ouelette, G., P., Buckley, y K. O’Connell. 2010. Environmental influences on the relative stability of baculoviruses and vaccinia virus: a review, in: O’Connell, K., Skowronki, E., L. Bakanidze., Sulakvelidze, A. (eds.). *Emerging and Endemic Pathogens: Advances in Surveillance, Detection and Identification*. Springer. 125-149.
- Pacheco, M. F. 1994. Plagas de los cultivos oleaginosos en México. INIFAP, sección Noreste. pp. 456-458.
- Paliwal, R., G. Granados, .H Lafitte, y A. Violic. 2001. El maíz en los trópicos, mejoramiento de producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Roma, Italia. 392 p.
- Parra-Vargas, M. y J. Vargas-Hernández. 2017. El mercado del maíz en México desde el enfoque de la economía industrial y las cartas de transacción. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y. Cambio Climático*. 3: 752-768.

- Pelizza, S., Y. Mariottini., L. Russo., F. Vianna., A. Scorsetti, y C. Lange. 2019. Application of *Beauveria bassiana* using different baits for the control of grasshopper pest *Dichroplus maculipennis* under field cage conditions. *Journal of King Saud University-Science*. 23: 1-5.
- Peng, F., J. R. Fuxa., A. R. Richter, y S. J. Johnson. 1999. Effect of heatsensitive agents, soil type, moisture, and leaf surface on persistence of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus. *Environmental Entomology*. 28: 330–338.
- Pitre, H. N. 1986. Chemical control of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): an update. *Florida Entomologist*. 69: 570-578.
- Plessis, J. D. 2003. Maize production. Department of Agriculture-Republic of South Africa cooperation with ARC-Grain Crops Institute. Pretoria, South Africa.
- Ranum, P., J. Peña-Rosas, y M. García-Casal. 2014. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 34: 105-112.
- Ravi-Sharma, K., S. Raju., D. Kumar-Jaiswal, y S. Thakur. 2018. Biopesticides: an effective tool for insect pest management and current scenario in India. *Indian Journal of Agriculture and Allied Sciences*. 4: 58-62.
- Ribeiro, H. y O. Pavan. 1994. Baculovirus thermal stability. *Journal of Thermal Biology*. 19: 21-24.
- Richards, A., J. Cory., M. Speight, y T. Williams. 1999. Foraging in a pathogen reservoir can lead to local host population extinction: a case study of a Lepidoptera:virus interaction. *Oecología*. 118: 29-38.
- Ríos-Velasco, C., G. Gallegos-Morales, J. Cambero-Campos, E. Cerna-Chávez, M. Del Rincón-Castro, y R. Valenzuela-García. 2011. Natural enemies of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Coahuila, México. *Florida Entomologist*. 94: 723-726.

- Roberts, P., J. More., J. Rott, y D. Lewin. 2011. Virus inactivation in albumin by a combination of alkali conditions and high temperature. *Biologicals*. 39: 67-72.
- Rodríguez, M. y C. De León. 2008. El cultivo del maíz. Temas selectos. 1ª ed. Colegio de Posgraduados - Mundi-Prensa. México. 152 p.
- Rohrmann, G. F. 2008. *Baculovirus Molecular Biology*. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. pp. 1-154.
- Rudebusch, G. 2019. Climate Change and the Federal Reserve. *Economic Letter*. San Francisco, Estados Unidos de América, 9 p.
- Ruiu, L. 2018. Microbial biopesticides in agroecosystems. *Agronomy*. 8: 1-12.
- Sajap, A., M. Bakir., H. Kadir, y N. Samad. 2007. Effect of pH, rearing temperature and sunlight on infectivity of Malaysian isolate of nucleopolyhedrosis to larvae of *Spodopera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Tropical Insect Science*. 23: 108-113.
- Salamanca-Bastidas, J., E. Varón-Devia, y O. Santos-Amaya. 2010. Cría y evaluación de la capacidad de depredación de *Chysoperla externa* sobre *Neohydatothrips signifer*, trips plaga del cultivo del maracuyá. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 11: 31-40.
- Salgado-Morales, R., F. Martínez-Ocampo., V. Obregón-Barboza., K. Vilchis-Martínez., A. Jiménez-Pérez, y E. Dantán-González. 2019. Assessing the Pathogenicity of Two Bacteria Isolated from the Entomopathogenic Nematode *Heterorhabditis indica* against *Galleria mellonella* and Some Pest Insects. *Insects*. 10: 1-14.
- Salvato, M., H. Salvato., E. Henry y B. Plier. 2018. *Trichogramma* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) an egg parasitoid of *Strymon acis bartrami* (Lycaenidae). *Journal of the Lepidopterists Society*. 72: 175-176.

- Scaccini, D. 2018 Remarks on the Biology of *Dinera ferina* (Diptera: Tachinidae) as parasitoids the two Italian *Platycerus* species (Coleoptera: Lucanidae). Bulletin of Insectology. 71. 39-43.
- Shapiro, D., J. Fuxa., H. Braymer, y D. Pashley. 1991. DNA restriction polymorphism in wild isolates of *Spodoptera frugiperda* nuclear polyhedrosis virus. Journal of Invertebrate Pathology. 58: 96-105.
- Shapiro, D. y J. Domek. 2002. Relative effects of ultraviolet and visible light on the activities of corn earworm and beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedroviruses. Biological and Microbial Control. 95: 261-268.
- Shikano, I. y J. Cory. 2015. Impact of environmental variation on host performance differs with pathogen identity: Implications for host-pathogen interactions in a changing climate. Nature. 5: 1-10.
- Shrestha, A., K. Bao., Y. Chen., W. Chen., P. Wang., Z. Fei, y G. Blissard. 2018. Global analysis of baculovirus AcMNPV gene expression in the midgut of the lepidopteran host, *Trichoplusia ni*. Journal of Virology. 92: 1-21.
- Shylesha, A., S. Jalali., A. Gupta., R. Varshney., T. Venatesan., P. Shetty., R. Ojha., P. Ganiger., O. Navik., K. Subaharan., N. Bakthavatsalam., C. Ballal, y A. Raghavendra. 2018. Studies on new invasive pest *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and its natural enemies. Journal of Biological Control. 32: 145-151.
- SIAP-SAGARPA. 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Planeación agrícola nacional 2017-2030. Maíz grano, blanco y amarillo mexicano. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B_sico-Maíz_Grano_Blanco_y_Amarillo.pdf.
- SIAP-SAGARPA. 2018. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y

Alimentación. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/ventana.php?idLiga=1043&tipo=1>.

- Sifuentes-Ibarra, E., J. Macías-Cervantes., C. Mendoza-Pérez., D. Vázquez-Díaz., Salinas-Verduzco, y M. Inzunza-Ibarra. 2018. Efecto de la siembra directa en las propiedades del suelo y aprovechamiento de riego en maíz en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. Especial. 20: 4235- 4343.
- Simón, O., A. Bernal., T. Williams., A. Carnero., E. Hernández., D. Munoz, y P. Caballero. 2015. Efficacy of an alphabaculovirus-based biological insecticide for control of *Chrysodeixis chalcites* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato and banana crops. *Pest Management Science*. 71: 1623-1630.
- Sisay, B., J. Simiyu., P. Malusi., P. Likhayo., E. Mendesil., N. Elibariki., M. Wakgari., G. Ayalew, y T. Tefera. 2018. First report of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) natural enemies from Africa. *Journal of Applied Entomology*. 142: 1-5.
- Sisay, B., J. Simuyu., E. Mendesil., P. Likhayo., G. Ayalew., S. Mohamed., S. Subramanian, y T. Tefera. 2019. Fall armyorm, *Spodoptera frugiperda* infestations in East Africa: Assessment of damage and parasitism. *Insects*. 10: 1-10.
- Sisay, B., T. Tefera., M. Wakgari., G. Ayalew, y E. Mendesil. 2019. The efficacy of selected synthetic insecticides and botanicals against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in maize. *Insects*. 10: 1- 14.
- Song, Y., C. Song., J. Ren., X. Ren., X. Ma., W. Tan., X. Wang., J. Gao, y A. Hou. 2019. Short-Term Response of the Soil Microbial Abundances and Enzyme Activities to Experimental Warming in a Boreal Peatland in Northeast China. *Sustainability*. 11: 1-16.

- Soto, J. y J. Lannacone. 2008. Efecto de dietas artificiales en la biología de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). Acta Zoológica Mexicana. 24: 1-22.
- Sporleder, M., O. Zegarra., E. Rodríguez, y J. Kroschel. 2008. Effects of temperature on the activity and kinetics of the granulovirus infecting the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). Biological Control. 44: 286-295.
- Subedi, S. 2015. A review on important maize diseases and their management in Nepal. Journal on Maize Research and Development. 1. 28-52.
- Sun, X., W. Van-derwerf., J. Vlak, y Z. Hu. 2004. Field inactivation of wild-type and genetically modified *Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus in cotton. Biocontrol Science and Technology. 14: 185-192.
- Szewczyk, B., L. Hoyos-Carbajal., M. Paluszek., I. Skrzecz, y M. Lobo-deSouza. 2006. Baculoviruses, re-emerging biopesticides. Elsevier. Biotechnology advances. 24: 143-160.
- Tall, A., B. Kandra., M. Gombos, y D. Pavelková. 2019. The influence of soil texture on the course of volume changes of soil. Soil and Water Research. 14: 57-66.
- Tao, H., Y. Zhang., Z. Deng, y T. Liu. 2019. Strategies for enhancing the yield of the potent insecticide spinosad in Actinomycetes. Biotechnology Journal. 14: 1-11.
- Thézé, J., C. Lopez-Vaamonde., J. Cory, y E. Herniou. 2018. Biodiversity, evolution and ecological specialization of baculoviruses: a treasure trove for future applied research. Viruses. 10:366-382.

- Thierry, M., J. Hrcek, y O. Lewis. 2019. Mechanisms structuring host-parasitoid networks in a global warming context: a review. *Ecological entomology*. 44: 581- 592.
- Thompson, G. C., D. W. Scott, y B. E. Wickman. 1981. Long term persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the Douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lepidoptera: Lymantriidae) in forest soil. *Environmental Entomology*. 10: 254–255.
- Tsukui, K., C. Yagisawa., S. Fujimoto., M. Ogawa., R. Kokusho., M. Nozawa., H. Kawasaki., S. Katsuma, y M. Iwanaga. 2019. Infectious Virions of *Bombyx Mori* Latent Virus Are Incorporated into *Bombyx mori* Nucleopolyhedrovirus Occlusion Bodies. *Viruses*. 11: 316-326.
- USDA, Foreign Agricultural Service. 2019. Mexico, Grain and Feed Annual, Modest Growth Expected for Grain Production and Imports. *Global Agricultural Information*. 1: 1-17.
- Useros-Fernández, J. 2012. El cambio climático: sus causas y efectos medioambientales. *Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid*. 50: 71-98.
- Valdez, J. B., F. Soto, y C. Osuna. 2012. Modelos de predicción tecnológica para maíz blanco (*Zea mays* L.) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith). *Agrociencia*. 46: 399-410.
- Van-Huis, A. 1981. Integrated pest management in the small farmers maize crop in Nicaragua. *Meded. Landbou. Wageningen, Holanda*. 235 p.
- Vandamme, P. y P. Eberl. 2018. Burkholderia. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Wiley. New Jersey, Estados Unidos de América. pp. 64-69.

- Velásquez, L., D. Rojas, y J. Cerón. 2018. Proteínas de *Bacillus thuringiensis* con actividad citotóxica: Parasporinas. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 20 (2): 89-100.
- Vialard, J., M. Arif, y C. Richardson. 1995. Introduction to the Molecular Biology of Baculoviruses. *Methods in Molecular Biology*. 39: 1-24.
- Villamizar, L., C. Espinel, y A. Cotes. 2009. Efecto de la radiación ultravioleta sobre la actividad insecticida de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*. 35: 116-121.
- Wheeler, G. S., T. R. Ashley, y K. L. Andrews. 1989. Larval parasitoids and pathogens of the armyworm in Honduran maize. *Entomophaga*. 34: 331-340.
- Whitfield, J., A. Austin, y J. Fernandez. 2018. Systematics, Biology, and Evolution of Microgastrine Parasitoid Wasps. *Annual Review of Entomology*. 63: 388-410.
- Williamson, K., A. Satre-Meloy., K. Velasco, y K. Green. 2018. Climate Change Needs Behavior Change: Making the Case For Behavioral Solutions to Reduce Global Warming. Arlington, VA: Rare. 56 p.
- Wu, Y., L. Jiang., H. Geng., T. Yang., Z. Han., X. He., K. Lin, y F. Xu. A. 2018. Recombinant Baculovirus Efficiently Generates Recombinant Adeno-Associated Virus Vectors in Cultured Insect Cells and Larvae. *Molecular Therapy: Methods & Clinic Development*. 10: 38-47.
- Young, S., 2001. Persistence of virus in the environment. En: Baur, M.E., Fuxa, J.R., (Eds.), Factors affecting the survival of entomopathogens. Southern Cooperative Series Bulletin. Estados Unidos de América. pp. 2301-265.

- Yuksel E. y R. Canhilal. 2019. Isolation, identification, and pathogenicity of entomopathogenic nematodes occurring in Cappadocia Region, Central Turkey. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 29: 40-46.
- Zhang, X., Z. Lei., S. Reitz., S. Wu, y Y. Gao. 2019. Laboratory and greenhouse evaluation of a granular formulation of *Beauveria bassiana* for control of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Insects*. 10: 58-68.
- Zhao, S., G. He., Y. Yang, y C. Liang. 2019. Nucleocapsid Assembly of Baculoviruses. *Viruses*. 11: 1-9.

CAPÍTULO II.

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA TESIS

JUSTIFICACIÓN

El estado de Sinaloa es el principal productor de maíz en México. En la actualidad, los rendimientos se ven disminuidos debido a la presencia de diversas especies de insectos plaga. El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* causa grandes pérdidas económicas si no se realiza un manejo adecuado del cultivo. Para su control, se utilizan ampliamente los insecticidas químicos, mismos que causan daños a la salud humana, matan insectos benéficos y contaminan al ambiente. Para reducir estos impactos, se percibe un creciente interés mundial por comprender el papel ecológico de insectos parasitoides y microorganismos entomopatógenos en el control natural de plagas, y determinar su potencial como agentes de control biológico para contrarrestar el uso de químicos y sus efectos.

El uso de parasitoides como una estrategia para el control biológico es una alternativa viable dentro de un manejo integrado de plagas, debido a que éstos, en condiciones favorables, controlan de manera eficaz las poblaciones de *S. frugiperda*. Las ventajas de usar estos enemigos naturales se basan en que son relativamente fáciles y económicos de reproducir, son específicos, tienen poco o ningún efecto contra otros organismos benéficos y su población una vez introducida puede ser permanente.

Por otra parte, los virus entomopatógenos son posiblemente la alternativa de mayor perspectiva dentro del manejo integrado de plagas. Las ventajas comparativas de este grupo sobre otros agentes de biocontrol son: alta especificidad para infectar insectos plaga sin ocasionar daños a otras especies benéficas, causan severas epizootias con altas mortalidades, tienen amplia distribución en la naturaleza, muestran gran afinidad por lepidópteros y estabilidad en suelo. Estas características hacen muy atractivos a los baculovirus como entomopatógenos para el biocontrol de plagas. Por todo esto, es importante explorar las características de los aislados nativos en el norte de Sinaloa incluyendo presencia, patogenicidad y persistencia, para evaluar su potencial como bioinsecticida. A la fecha, no existen reportes de bioinsecticidas a base de virus entomopatógenos contra estas plagas en la región.

HIPÓTESIS

La presencia y abundancia de parasitoides de *S. frugiperda* es mayor en maíz voluntario que en las temporadas agrícolas (P-V, O-I) y los virus entomopatógenos presentan mayor persistencia en suelos limosos con pH óptimos (7 - 7.5) para la agricultura en la región.

OBJETIVOS

GENERAL

Determinar la presencia de parasitoides y NPVs en larvas de *S. frugiperda* recolectadas en cultivos de maíz en dos años de cultivo y evaluar la persistencia de NPVs en diferentes tipos de suelo del norte de Sinaloa, en diferentes condiciones experimentales.

ESPECÍFICOS

1. Establecer una cría axénica de *S. frugiperda* bajo condiciones de laboratorio.
2. Recolectar e identificar los parasitoides asociados a larvas de *S. frugiperda* en campo.
3. Obtener aislados virales de larvas y muestras de suelo en la zona norte de Sinaloa.
4. Evaluar la persistencia de NPVs en diferentes tipos de suelos agrícolas bajo diferentes condiciones experimentales.

CAPÍTULO III:

Parasitoides y entomopatógenos asociados al gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* en el norte de Sinaloa.

Parasitoids and Entomopathogens Associated with Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*¹, in Northern Sinaloa

Southwestern Entomologist 43 (4): 867-881, 2018.

Parasitoids and Entomopathogens Associated with Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*¹, in Northern Sinaloa

Parasitoides y Entomopatógenos Asociados al Gusano Cogollero del Maíz, *Spodoptera frugiperda*¹, en el Norte de Sinaloa

Miguel A. López², Ana Mabel Martínez-Castillo³, Cipriano García-Gutiérrez², Edgardo Cortez-Mondaca⁴, and César Marcial Escobedo-Bonilla^{2*}

Abstract. Larvae of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), were collected from 190 maize fields (*Zea mays* L.) in northern Sinaloa, Mexico, during 2016 and 2017. Larvae from the same species were also collected from naturally re-grown maize plants after the rainy season. The aim of this study was to determine the natural occurrence of parasitoids and entomopathogens of *S. frugiperda* in this agricultural area. Taxonomic keys were used to identify parasitoids. Larvae with signs of infection by viruses, bacteria or fungi were analyzed by one-step PCR. In the years 2016 and 2017, the average proportion of parasitized *S. frugiperda* larvae in cultured maize fields was 7 and 9.3%, respectively. In contrast, in re-grown maize, parasitized larvae proportion was 12.5 and 16.5%, respectively. In both years, significant differences in the parasitism abundance among some months were observed. The most common parasitoids were *Meteorus laphygmae* Viereck (n = 862), *Chelonus insularis* Cresson (n = 640), and *Cotesia marginiventris* Cresson (n = 303), with 9.5% of total parasitism. Idiopathic mortality (2.6%) was determined throughout the study, but no entomopathogens were found in any larva collected. Parasitoids associated with *S. frugiperda* are well established in northern Sinaloa. Nonetheless, additional studies are needed to determine potential as biological control agents and evaluate the possible influence of maize type on their abundance.

¹Lepidoptera: Noctuidae.

²Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Col. San Joaquín. Guasave, Sinaloa, México.

³Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Gral. Francisco J. Múgica S/N, Col. Ciudad Universitaria, C.P. 58030 Morelia, Michoacán.

⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Valle del Fuerte. Km. 1609. Carretera Internacional México-Nogales, Juan José Ríos, Guasave, Sinaloa, México.

*Corresponding author: cesar_escobedomx@yahoo.com

Resumen. Se colectaron larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) en 190 campos de cultivos de maíz en el norte del estado de Sinaloa, México, durante 2016 y 2017. Además, se colectaron larvas de *S. frugiperda* de plantas de maíz, "maíz voluntario", que crecieron después de la temporada de lluvias. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia natural de parasitoides y entomopatógenos en *S. frugiperda* en esta área agrícola. Se utilizaron claves taxonómicas para la identificación de parasitoides. Las larvas con signos de infecciones virales, bacterianas o fúngicas se analizaron mediante el método de PCR. La mortalidad natural por parasitoides en larvas de *S. frugiperda* colectadas en cultivos de maíz se observó entre 7 y 9.3% en ambos años de estudio; mientras que las colectas realizadas en "maíz voluntario" el parasitismo fue 12.5 y 16.5% en 2016 y 2017, respectivamente. En ambos años, se observaron diferencias significativas en la abundancia de parasitoides entre algunos meses. Los parasitoides más observados comúnmente fueron *Meteorus laphygmae* Viereck (n = 862), *Chelonus insularis* Cresson (n = 640), y *Cotesia marginiventris* Cresson (n = 303), que en conjunto representaron 9.5% del parasitismo total. Se determinó el 2.6% de mortalidad idiopática en todo el estudio, pero no se encontraron entomopatógenos en ninguna de las larvas colectadas. Concluimos que las poblaciones de parasitoides asociadas con *S. frugiperda* están ampliamente establecidas en el norte del estado de Sinaloa. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales para determinar su potencial como agentes de control biológico y para evaluar la posible influencia del tipo de maíz en su abundancia.

Introduction

Maize, *Zea mays* L., is an important crop worldwide because it is a basic, nutritious food. In Mexico, maize is a significant food item used as food in agroindustry and animal husbandry (Paliwal *et al.*, 2001). Here, 30 million tons of maize are produced on 7.5 million ha. with an average yield of 4 tons per ha. (SIAP-SAGARPA, 2016). Sinaloa produces 5.4 million tons on 600,000 ha. with average yield of 9 tons per ha. Maize is sown in two seasons: spring-summer and fall-winter (SIAP-SAGARPA, 2014). Maize crops are affected by insect pests, especially the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) which causes damages to crops and causes additional expenses due to control efforts (CIMMYT, 2004, León-García *et al.*, 2012, Valdez *et al.*, 2012).

Biological control is a sustainable strategy in integrated pest management to reduce excessive use of insecticide. Biological insecticides (based on bacteria, nematodes, fungi, and viruses) and parasitoids are promising alternatives, because they are pest specific and safe for human health, reducing impact on the environment and beneficial insects (Elósegui, 2006). In México, 40 species parasitize *S. frugiperda* larvae (Bahena *et al.* 2002, Molina *et al.*, 2003). Parasitoids kill 15-30% (Martínez *et al.*, 2000) and 35-70% (Armenta *et al.*, 2003) of pests. The most common parasitoids are hymenopterans of the families Braconidae, Eulophidae, and Ichneumonidae and parasitic flies of the families Sarcophagidae and Tachinidae (Molina *et al.*, 2003). Fall armyworm is susceptible to more than 16 species of pathogens including nucleopolyhedroviruses and granuloviruses, fungi such as *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Entomophthora aulicae* (Reich.), the microsporidian *Nosema laphygmae* Weiser, *Hexameris* and *Heterorhabditis* nematodes, and bacteria such as *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Garden and Fuxa 1980). Between 0.09-2.21% of fall armyworms in crops of maize and sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Moench at Colima, Jalisco, and Tamaulipas, Mexico were infected by pathogens, especially mermitid nematodes (Lezama *et al.*, 2000).

It is important to know which and how beneficial entomofauna and entomopathogens naturally regulate fall armyworms. This is relevant for future research on potential use as biological control agents for integrated pest management of fall armyworm. The aim of the study was to determine the natural presence of parasitoids and entomopathogens associated with *S. frugiperda* larvae collected in fields of cultivated and re-grown maize in northern Sinaloa.

Materials and Methods

Larvae of *S. frugiperda* at different developmental stages (instars) were collected from cultivated maize plants at 190 sites in the municipalities of Guasave and Sinaloa de Leyva, northern Sinaloa. Preference was given to sites where no pest control was used (Fig. 6). Samples were collected during the fall-winter (November, December, January, February, March, April and May) and spring-summer (February, March, April, May, July and August) seasons of 2016 and 2017, respectively, from maize plants taller than 40 cm in commercial fields. “Maíz voluntario” (maize plants naturally re-grown during the rainy season after crops were harvested mainly in July, August and September) also were sampled for fall armyworm.

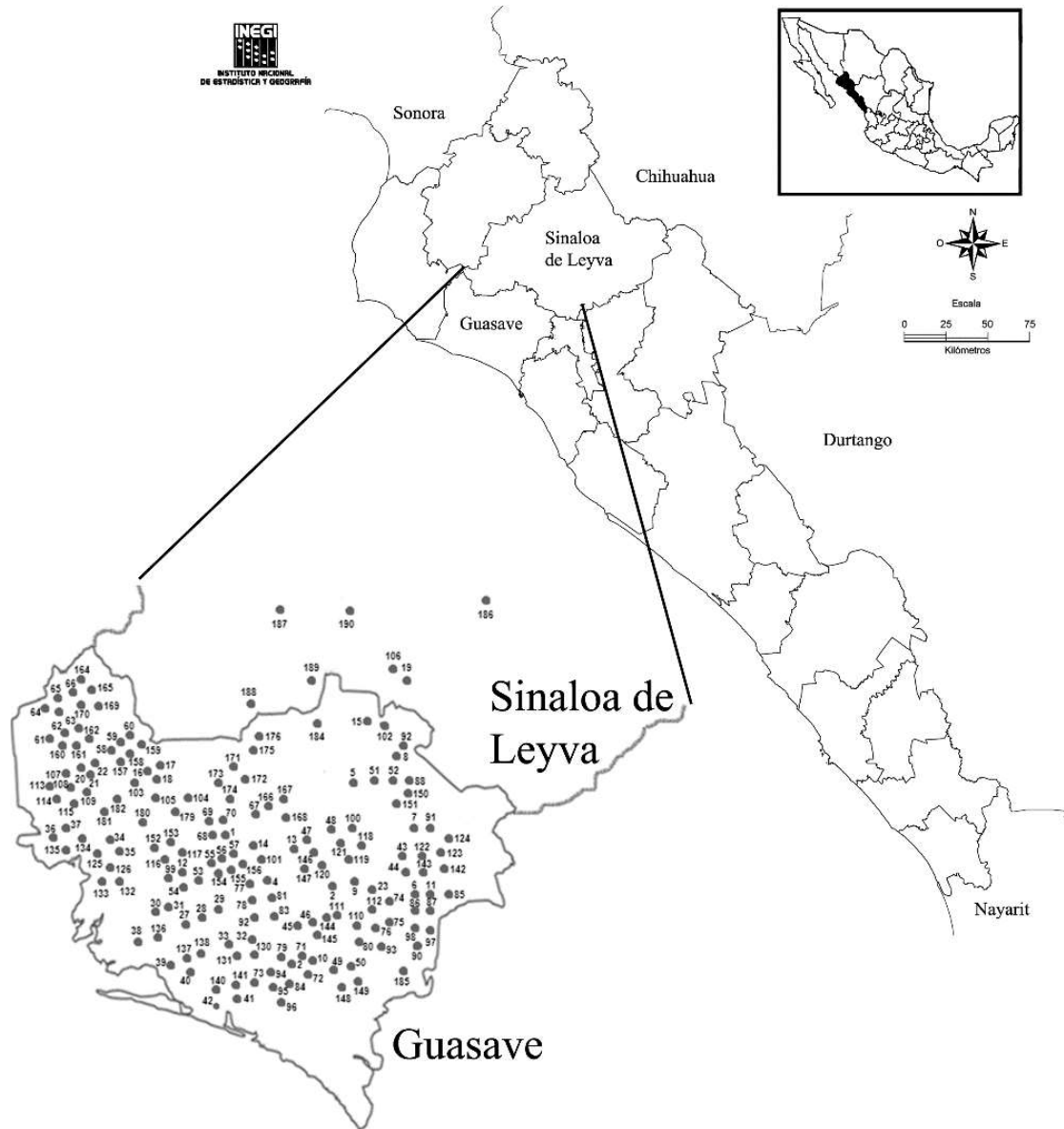


Fig. 6. Geographic location of sample sites for fall armyworm in the municipalities of Guasave and Sinaloa de Leyva, Sinaloa, Mexico.

Fig. 6. Ubicación geográfica de los sitios de colecta del gusano cogollero en los municipios de Guasave y Sinaloa de Leyva, Sinaloa, México.

In total, 100 larvae were collected at each site (total = 19,000 larvae). Intensive sampling was done to obtain larvae naturally infected by nucleopolyhedroviruses, bacteria or fungi, and/or infested by nematodes, entomopathogens, and/or parasitoids. Larvae collected were placed individually

into 30 mL plastic cups (Solo®) and taken to CIIDIR-Sinaloa IPN where they were fed artificial diet modified from that for rearing noctuids (Dilcia and Linares, 1989; Murúa *et al.*, 2003).

Larvae were maintained at 25 °C, 60% relative humidity, and 12:12 h photoperiod, which are optimal conditions for development of fall armyworm (Murúa *et al.* 2003). Cultures produced axenic offspring for future experiments propagating entomopathogens. During rearing, larvae infected by entomopathogens were put individually into 1.5 mL microtubes and stored at 4 °C until analyzed. Larvae with parasitoids were isolated and monitored until parasitoids or adult moths emerged.

Parasitoids collected were put into 1.5 mL microtubes filled with 70% ethanol to determine species by taxonomic key (Borrow *et al.* 1989, Goulet and Huber 1993, Borrow and White 1998, Johnson and Triplehorn 2005, Fernández and Sharkey 2006, Eaton and Kaufman 2007, Fernández and Pujade 2015). The species were corroborated by comparison with reference specimens at the experimental field at Valle del Fuerte of Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Juan José Ríos, Guasave, Sinaloa. The identified specimens were deposited into the insect collection at CIIDIR Sinaloa IPN.

The parasitism percentage was determined by separated in each month during 2016 and 2017, as has been reported in previous studies (García *et al.*, 2013a; Estrada *et al.*, 2013).

Larvae with signs of infection by virus (lethargy, flaccidity, hanging from the leaves with their rear legs) or fungi in the field were collected. Larvae that were apparently healthy when collected in the field but in the laboratory developed signs of infection by entomopathogens were individually placed into 1.5 mL microtubes and stored at 4 °C for diagnosis.

Total DNA was extracted with 3% cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) buffer from larvae collected in the field that showed signs of infection by

entomopathogens (Zhang et al. 1998). Briefly, Larval tissues were ground, tissue debris and membranes were precipitated with chloroform-isoamyl alcohol (24:1) and centrifuged (13,000 rpm for 10 minutes), leaving DNA in the aqueous phase. DNA was precipitated with isopropyl alcohol and washed with 70% ethanol. DNA was air dried and dissolved in 70 µl nuclease-free water. DNA quality was measured by nano spectrophotometry (nanodrop 2000 c, Thermo Fisher Scientific) and Tris-Acetic Acid-EDTA (TAE) agarose gel (1%) electrophoresis. Total DNA concentration was adjusted to 50 - 100 ng/µl for analysis by polymerase chain reaction (PCR). Primers used amplified a 575 base pairs (bp) fragment of baculovirus polyhedrin gene 5' TACGTGTACGACAACAAGT 3' (forward) and 5' TTGTAGAAGTTCTCCCAGAT 3' (reverse) (Morales and Maruniak, 1997). Primers to detect entomopathogenic fungi were ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') - ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') that amplified a fragment between 400 and 750 bp of the interspace region (ITS1/5.8S/ITS2) of the ribosomal DNA (rDNA) internal transcription site (White et al. 1990). Primers D2A (5' ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG 3') and D3B (5' TCGGAAGGAACCAGCTACTA 3') amplified the D2-D3 segment of the large subunit of the 28S rDNA gene of entomopathogen nematodes. The PCR product was expected to be 500-750 bp (De Ley *et al.*, 2005). In all cases, respective positive controls donated by the bioinsecticide laboratory at CIIDIR-Sinaloa were used. The PCR products were visualized in a UV transilluminator (UltraBright, Maestrogen).

Data of parasitoid presence was statistically analyzed. Data did not fit the normal distribution nor variance homoscedasticity. Therefore the Kruskal-Wallis non parametric analysis was done. Likewise, non parametric multiple comparisons were done to determine differences in abundance between months (Zar, 1998).

Results and Discussion

In total, 19,000 *S. frugiperda* larvae were analyzed for parasitoids and entomopathogens. Most larvae were collected in Guasave (n = 18,400, 96.8%) (Fig. 6) and the remainder from Sinaloa de Leyva municipality (n = 600, 3.2%).

About half of parasitoids were collected from cultivated maize and the other half from naturally re-grown maize.

In 2016, most parasitism (12 and 13%) occurred in August and September, respectively, whereas least (7%) was in February and May (Fig. 7). Parasitism in 2017 was 5 to 18%. As in 2016, most was observed in August (18%) and September (15%). Least was between January and April (range 5-7%). In June 2016 and 2017, *S. frugiperda* were not sampled because crops were harvested or near harvest and the pest was absent. Average parasitism for the 2 years was 9%. Results are within the natural range of parasitism of *S. frugiperda* in different maize-producing areas of Mexico (\approx 8-50%) (Martínez *et al.*, 2000, Armenta *et al.*, 2003, Estrada *et al.*, 2013, Gutiérrez *et al.*, 2015, Ordoñez *et al.*, 2015). Rates of parasitism for states in northern Mexico were 32.2% at Sonora (Cortez *et al.*, 2010), 35.2% at Coahuila (Ríos *et al.*, 2011), and between 19.8% (García *et al.*, 2013) and 36.8% (González *et al.*, 2014) at Durango.

Rate of parasitism varied during the season. In 2016, parasitism was 8.6% in fall-winter and 9.3% in summer-fall. Parasitism was greater in re-growing than cultivated maize (12.5%). In 2017, rate of parasitism was similar between seasons (6% in fall-winter and 7% in summer-fall), but greatest (16.5%) in re-growing maize. Differences in rates of parasitism between locations might be caused by factors such as weather each season, crop management, diversity of vegetation, host survival, co-dependence of host seasonal distribution (Hance *et al.* 2007, González *et al.*, 2014), and even the number of individuals collected per site.

Statistical analysis showed that data were not normally distributed, therefore the nonparametric Kruskal-Wallis test was applied to determine whether abundance differences existed between months. For both years, Kruskal-Wallis values ($F_{2016} = 2.0522$, $P > 0.05$; $F_{2017} = 5.2485$, $P > 0.05$) rejected H_0 indicating that significant differences existed in parasitoid abundance between months. In 2016, significant differences were found only between September and February and September and April; whereas in 2017, significant differences were found

between August and January, February, March, April and May, as well as between September and January, March and April (Table 2).

Significant differences found between months may be due to the lack of pesticide application in August-September because in these months only re-grown maize is available. This type of maize has no commercial value. Lack of pesticides favor the increase of natural enemies against fall armyworm.

In contrast, in the months when maize is cultured (January, February, March, April and May), up to three pesticide applications can be done to control this pest, but this practice also reduces the amount of natural enemies in the field, including parasitoids.

Differences in rates of parasitism between locations might be caused by factors such as weather, seasonal crop management, vegetation diversity, host survival, co-dependence of host seasonal distribution (Hance *et al.*, 2007, González *et al.*, 2014) and even the number of individuals collected per site.

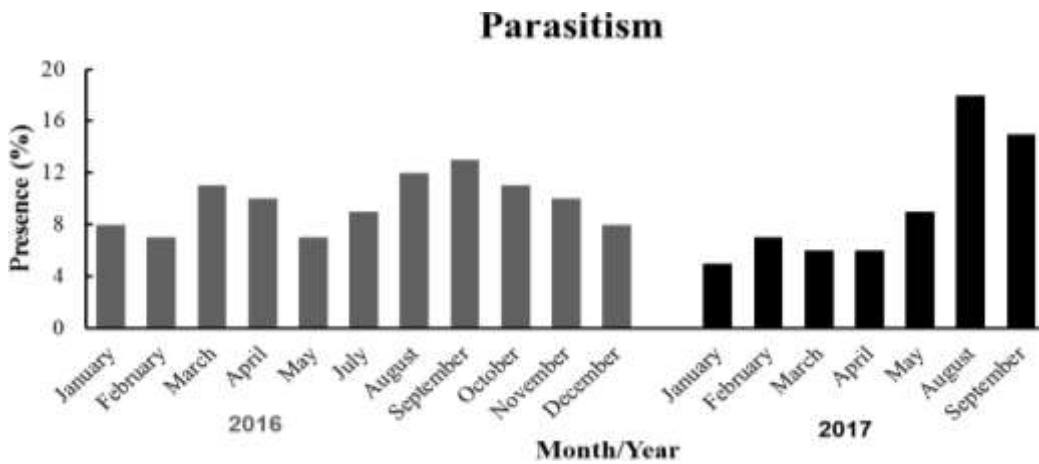


Fig. 7. Monthly abundance of parasitoids in fall armyworm larvae in 2016 and 2017.

Fig. 7. Abundancia mensual de parasitoides en larvas de gusano cogollero en 2016 y 2017.

The highest proportion of parasitoids of *S. frugiperda* was found in re-grown maize in both years (12.5 - 16.5%). This type of maize might be a better environment for the establishment of natural enemies of fall armyworm because no pesticides were applied. Soil or vegetation was not changed in any way. Conversely, insecticides are routinely used one to three times per season in conventional crop fields. Insecticides commonly used are permethrin, emamectin benzoate, spinetoram, and novaluron (SAGARPA, 2015). Insecticides affect natural populations of parasitoids (Ríos *et al.*, 2011, Ordóñez *et al.*, 2015). It is also likely that during development of re-grown maize, other wild plants shelter and feed adult parasitoids. This was demonstrated in different agricultural systems (Altieri and Nicholls, 1999, 2009). Other studies determined that parasitism in *S. frugiperda* larvae was greater (n = 293, 45%) in fields of re-grown maize than where maize was conventionally cultured (4 - 38% range) in Sinaloa (Cortez *et al.*, 2012).

Four braconid species [*Meteorus laphygmae* (Viereck), *Chelonus insularis* (Cresson, 1865), *Cotesia marginiventris* (Cresson), and *Chelonus sonorensis* (Cameron, 1887)], one ichneumonid [*Pristomerus spinator* (Fabricius)], and one tachinid dipteran [*Lespesia* sp.] were identified. Except *Lespesia* sp. that was found only in re-grown maize, all others were in both maize types. The most abundant species in both years were *M. laphygmae* (n = 862), *Ch. insularis* (n = 640), and *C. marginiventris* (n = 303) (Fig. 8), which together accounted for 9.5% of total parasitism. The species are the same as those determined by Cortez *et al.*, (2012) in maize and sorghum crops at Sinaloa. Also determined were *Ch. sonorensis*, *Meteorus* sp., *P. spinator*, *Ophion flavidus* Brulle (Hymenoptera: Ichneumonidae), and *Lespesia* sp., showing differences in relative abundance between re-grown and cultivated maize. For example, *Ch. insularis* was most abundant in re-grown maize (0.55), while *C. marginiventris* was the most abundant species in cultivated maize (0.99). Parasitoids *M. laphygmae* and *Ch. insularis* were most abundant in re-grown maize (81.8 and 73.12%, respectively) compared to cultivated fields (18 and 27%, respectively) considering the total per species (n =

862 and 640, respectively). In contrast, most other parasitoids (n = 535) occurred in cultivated maize (77.8%). The reason was not clear but might reflect prevalence of species at different periods of time or that some species might be more susceptible to conventional crop management.

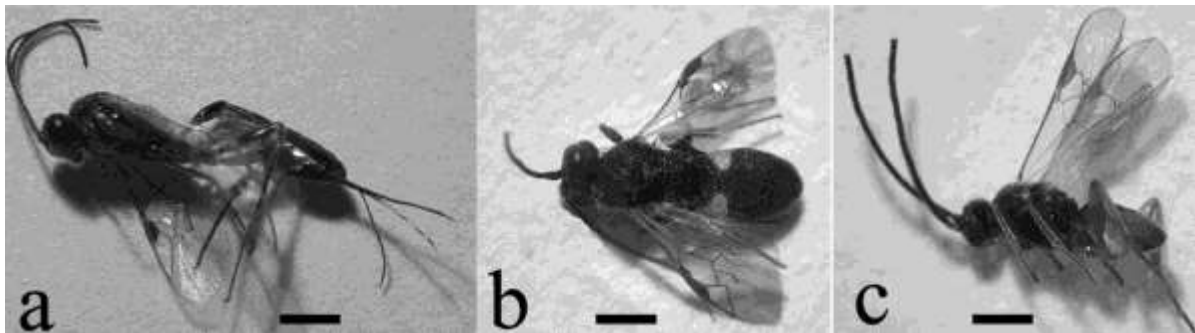


Fig. 8. Main parasitoids of fall armyworm obtained in cultivated and re-grown maize: a) *Meteorus laphygmae*, b) *Chelonus insularis*, and c) *Cotesia marginiventris*. Scale bar 1 mm.

Fig. 8. Principales parasitoides del gusano cogollero obtenidos en maíz cultivado y maíz voluntario: a) *Meteorus laphygmae*, b) *Chelonus insularis*, and c) *Cotesia marginiventris*. Barra de escala 1 mm.

In México, species diversity and abundance vary according to season and conditions throughout the year. In Sinaloa, Cortez *et al.*, (2012) reported *C. marginiventris* as the most abundant parasitoid of fall armyworm between October and April. In Nayarit, the most abundant parasitoids were *C. marginiventris* and *Ch. insularis* ($\approx 28\%$) in January 2012 and August 2013, respectively (Gutiérrez *et al.*, 2015). In 2013, *Meteorus* sp. and *Campoletis flavicincta* were the most widely distributed species in Chihuahua during August and September (43 and 38%, respectively) (Ordóñez *et al.*, 2015). In Durango, *Ch. sonorensis* and *Ch. insularis* were most abundant (44 and 19.0%, respectively) (García *et al.* 2013a). In Saltillo Coahuila, *Ch. insularis* was the predominant species (21.4%) followed by *Ch. cautus* (0.25%) and *Ch. sonorensis* (0.08%) (Ríos *et al.*, 2011). The species *Ch.*

sonorensis and *Ch. insularis* were the dominant parasitoids in maize in different locations throughout Mexico, including Colima, Chiapas, Jalisco, Nayarit, Puebla, and Veracruz during 2005 and 2006 (Jourdie *et al.*, 2010). The two species were most abundant in established maize crops in Irapuato, Guanajuato in 2004 (Arroyo and Salas, 2015). Wide distribution of species such as *Ch. insularis* might be related to tolerance to altitude reported to be 1,700 - 1,900 m above sea level. This feature is shared with many other braconid species in Mexico, from 1,200-2,400 m (Saavedra, 2009) to 27-80 m above sea level in the present study.

Our results are different to those reported by Hay-Roe *et al.*, (2016) who found a higher proportion of parasitoids in May - June in Florida, USA. Also, Cortez *et al.*, (2012) reported June with the highest abundance of parasitoids in *S. frugiperda* larvae in Sinaloa, México. These results are different to those found in the present study. Factors that could influence such differences may include the intensity of sampling, the temperature shift throughout the years and the study area.

Diversity of parasitoids associated with *S. frugiperda* has been well documented in America (Van Huis, 1981; Andrews, 1988; Carrillo, 1993, Cave, 1993, Ordóñez *et al.*, 2015). Studies showed enormous variety of natural enemies of *S. frugiperda*, from a natural viewpoint and as a strategy for biological control, but especially diversity and abundance of braconids. The larval stage has been most studied because parasitism in egg masses of *S. frugiperda* makes it difficult to reduce viable eggs reaching the larval stage, as was the case with the parasitoid *Trichogramma* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Carrillo, 1993).

In the present study, unknown mortality or also called idiopathic mortality (means that the cause of mortality observed - either in the field or under laboratory conditions- is unknown) was low. The monthly frequency was 1 - 4%. The average for the two years was 2.6 % (Table 1). This phenomenon was attributed to toxicity to larvae in the field because of previous applications of pesticide, damage by a natural enemy, predator, parasitoid or even as an effect of extreme weather. Unknown mortality was low compared to that found by Ordóñez *et al.*, (2015) who

reported 14.5 % in *S. frugiperda* larvae in Chihuahua, México. Weather conditions are different between the two states, which could be an important factor on the occurrence of this type of mortality.

Of the total number of *S. frugiperda* larvae collected in the field (n = 19,000) during 2016 and 2017, only 0.65% (n = 123) showed signs of infection by pathogens (Fig. 9). PCR analyses with specific primers to detect fungi, nematodes, and viruses were all negative. Results contrasted with other studies where fall armyworm from maize and sorghum fields in the states of Colima, Jalisco, Michoacán and Tamaulipas were infected with fungi (*Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, and *Hirsutella* spp. (1.94%), mermitid nematodes (2.21%), and a microsporidian (1.44%) in August 1998 (Lezama *et al.*, 2000). Likewise, García *et al.* (2013b) detected 2.8% larvae infected with baculovirus at different sites of cultivated maize at Guasave municipality and confirmed the baculovirus infection by PCR amplification of the polyhedrin gene. Studies reported infection by baculovirus in Louisiana (Fuxa, 1982), microsporidians in Venezuela and Puerto Rico (Agudelo, 1986, Pantoja and Fuxa, 1992), and nematodes in USA, Brazil, and Nicaragua (Van Huis, 1981; Valincente, 1986, Wheeler *et al.*, 1989).

Table 1. Proportion of Parasitoids and Unknown Mortality per Month

Cuadro 1. Proporción Mensual de Parasitoides y Mortalidad Desconocida

Larvae collected	Year	Month	Parasitoids (n)	Unknown mortality (n)	*Parasitoids
100	2016	January	8	2	4, 5, 2, 3
600	2016	February	42	18	3, 5, 2, 1, 4
300	2016	March	33	3	3, 2, 5, 4
1100	2016	April	110	44	3, 4, 5, 1, 2
200	2016	May	14	4	5, 4, 2, 1
300	2016	July	27	6	1, 4, 6, 5, 2
2600	2016	August	312	78	2, 1, 4, 3, 6, 5

5000	2016	September	650	150	1, 2, 3, 6
400	2016	October	44	8	1, 2, 3, 4, 6
600	2016	November	60	24	3, 1, 4, 5, 2
300	2016	December	24	9	3, 4, 5, 2
600	2017	January	30	18	3, 5, 2
800	2017	February	56	16	2, 1, 3, 5
1000	2017	March	60	20	3, 2, 5, 1
1400	2017	April	84	42	1, 2, 5, 4, 3
1700	2017	May	153	51	2, 1, 3, 4, 5
1000	2017	August	180	20	1, 2, 6
1000	2017	September	150	30	1, 2, 3, 4, 6, 5

1) *Meteorus laphygmae*, 2) *Chelonus insularis*, 3) *Cotesia marginiventris*, 4) *Chelonus sonorensis*, 5) *Pristomerus spinator*, and 6) *Lespesia* sp. *Parasitoids ordered from highest to lowest abundance.

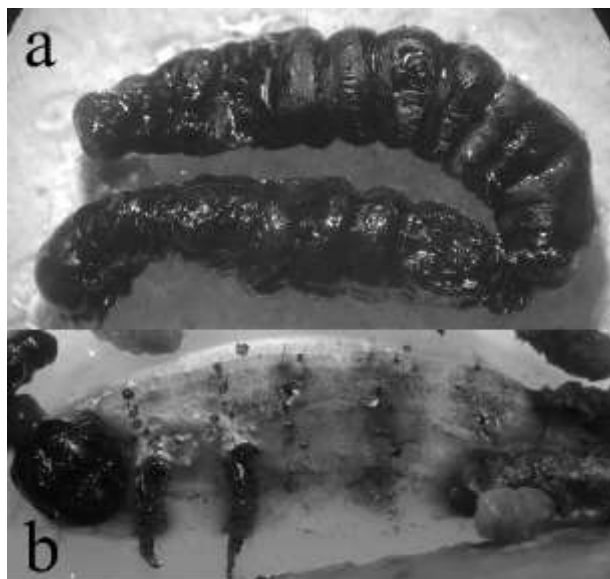


Fig. 9. Larvae with signs of infection by entomopathogens: a) bacteria, b) virus.

Fig. 9. Larvas con signos de infección por entomopatógenos: a) bacterias, b) virus.

The reason why entomopathogens were not registered in the present study is unknown, but it is possible that the scarce precipitation (175.6 mm in 2015 vs 98.3 mm in 2016) and extreme temperatures (19.6 - 32.5 °C in 2015 vs 15.8 - 32.4 °C in 2016) in Guasave might have influenced the establishment and/or viability of entomopathogens in the environment. In 2015 - 2016, temperature was warmer nationwide (average 26.2 °C); this phenomenon was not seen since 1971 (CONAGUA, 2017). High solar radiation can also inactivate pathogens on foliage (Fuxa, 1989; Young, 2001). Temperatures in the last few years have been raising and can affect terrestrial ecosystems, especially the diversity and abundance of beneficial entomofauna and entomopathogens in agroecosystems. These populations contribute to the natural regulation of insect pests in agricultural crops (Peñuelas and Filellas, 2001, Valladares *et al.*, 2005). Less precipitation might reduce splashing of rain drops that move baculoviral occlusion bodies from the soil (baculovirus reservoir) to a leaf surface where pest larvae feed and become infected with pathogen (Olofsson, 1988; Hochberg, 1989; Fuxa and Richter, 2001). Alternatively, it might be that the excessive use of pesticides altered soil pH which may affect the natural environment of the pathogens reservoirs (Thomas *et al.*, 1973; Jacques, 1974; McLeod *et al.*, 1982; Peng *et al.*, 1999; Young, 2001; Fuxa and Ritcher, 2001). Fast growth of maize might also reduce the chance of leaf inoculation by virus particles from the soil or pathogen persistence (Lezama *et al.*, 2000).

Table 2. Nonparametric multiple comparison analyses of parasitoid abundance between months.

Cuadro 2. Análisis no paramétrico de comparaciones múltiples de la abundancia de parasitoides entre los meses muestreados.

Year	Multiple comparisons	Qc	Q _{0.05,11}	Decision
2016	Sept vs Dec	3.22	3.317	Do not reject H ₀
2016	Sept vs Nov	2.27	3.317	Do not reject H ₀

2016	Sept vs Oct	1.33	3.317	Do not reject H_0
2016	Sept vs August	2.87	3.317	Do not reject H_0
2016	Sept vs July	2.82	3.317	Do not reject H_0
2016	September vs May	2.97	3.317	Do not reject H_0
2016	September vs April	3.67	3.317	Reject H_0
2016	September vs March	2.05	3.317	Do not reject H_0
2016	Sept vs February	4.99	3.317	Reject H_0
2016	Sept vs January	1.90	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs December	2.00	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs November	0.58	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs October	1.29	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs July	1.61	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs May	1.97	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs April	1.47	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs March	0.87	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs February	3.22	3.317	Do not reject H_0
2016	August vs January	1.20	3.317	Do not reject H_0
2017	August vs Sept	0.77	3.124	Do not reject H_0
2017	August vs May	3.87	3.124	Reject H_0
2017	August vs April	4.84	3.124	Reject H_0
2017	August vs March	3.97	3.124	Reject H_0
2017	August vs February	3.25	3.124	Reject H_0
2017	August vs January	4.77	3.124	Reject H_0
2017	September vs May	3.01	3.124	Do not reject H_0
2017	September vs April	4.01	3.124	Reject H_0

2017	September vs March	3.19	3.124	Reject H₀
2017	Sept vs February	2.53	3.124	Do not reject H ₀
2017	September vs January	4.10	3.124	Reject H₀

Conclusions

Monitoring natural enemies in the field is key to knowing their role in agricultural systems. Parasitoids of *S. frugiperda* larvae in cultivated and re-grown maize in northern Sinaloa were *Meteorus laphygmae*, *Chelonus insularis*, *Cotesia marginiventris*, *Chelonus sonorensis*, *Pristomerus spinator*, and *Lespesia* sp. Half of the parasitoids: *M. laphygmae*, *Ch. insularis*, and *C. marginiventris* were consistently abundant during the two years. The parasitoids should be further studied to determine their value as biological control agents and their possible use in integrated pest management programs.

The type of maize might influence abundance of parasitoid species, because most parasitoids (12.5 - 16.5%) were in re-grown maize. To confirm this, additional studies are required to include ecological indices such as abundance and diversity between sampling years and cultivation types.

Of the 19,000 *S. frugiperda* larvae collected from the field, a small proportion (2.6%) had unknown mortality despite that some of them (n = 123) showed signs of entomopathogen infection. None of these larvae were positive by PCR analysis to any entomopathogen tested.

Acknowledgment

This study was financially supported with grants SIP 20160553 and SIP20172239 from Instituto Politécnico Nacional. Special thanks to CONACyT Mexico for scholarship 20160553 and BEIFI-IPN 20172239 financially supported the first author.

References Cited

- Agudelo-Silva, P. 1986. A species of *Triplosporium* (Zygomycetes: Entomophthorales) infecting *Mononychelus progressivus* (Acari: Tetranychidae) in Venezuela. Fla. Entomol. 69: 444-446.
- Altieri, M. A., and C. I. Nicholls. 1999. Biodiversity, ecosystem function and insect pest management in agricultural systems, pp. 69-84. In W. W. Collins and C. O. Qualset [eds.], Biodiversity in Agroecosystems. CRC Press, Boca Raton.
- Altieri, M. A., and C. I. Nicholls. 2009. Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas. Perspectivas agroecológicas. Icaria editorial, España.
- Andrews, K. L. 1988. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Fla. Entomol. 71: 630-653.
- Armenta, R., A. M. Martínez, J. W. Chapman, R. D. Magallanes, P. Goulson, R. Caballero, D. Cave, J. Cisneros, J. Valle, V. Castillejos, D. I. Penagos, F. García, and T. Williams. 2003. Impact of a nucleopolyhedrovirus bioinsecticide and selected synthetic insecticides on the abundance of insect natural enemies on maize in southern Mexico. J. Econ. Entomol. 96: 649-661.
- Arroyo-Maciel, G. A., and M. D. Salas-Araiza. 2015. Enemigos naturales de *Spodoptera frugiperda* y *Helicoverpa zea* como una alternativa al uso de insecticidas. Jóvenes en la Ciencia, Revista de Divulgación 1: 48-53.
- Bahena, J. F., B. H. C. Arredondo, M. G. Vázquez, H. A. González, and S. M. Miranda. 2002. Parasitoides del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el occidente de México. Entomol. Mex. 1: 260-265.
- Borrow, D. J., and R. E. White. 1998. A Field Guide to Insects: America North of Mexico. 2nd ed. Houghton Mifflin.

- Borrow, D. J., C. A. Triplehorn, and N. F. Johnson. 1989. An Introduction to the Study of Insects. 6th ed. Brooks/Cole.
- Carrillo-Sánchez, J. 1993. Síntesis del control biológico de *Heliothis* spp., y *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en México. Folia Entomol. Mex. 87: 85-93.
- Cave, R. D. 1993. Parasitoides larvales y pupales de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en Centro América con una clave para las especies encontradas en Honduras. Ceiba 34: 33-56.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en campo. Cuarta ed. México, DF.
- CONAGUA. 2017. Reporte del clima en México. Reporte Anual. Año 7. Número 12. Disponible en: <http://200.4.8.20/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Diagn%C3%B3stico%20Atmosf%C3%A9rico/Reporte%20del%20Clima%20en%20M%C3%A9xico/RC-Diciembre17.pdf>. Fecha de consulta 15 January 2017.
- Cortez-Mondaca, E., I. Armenta-Cárdenas, and F. Bahena-Juárez. 2010. Parasitoides porcentaje de parasitismo sobre el gusano cogollero (Lepidoptera: Noctuidae) en el sur de Sonora, México. Southwest. Entomol. 35: 199-203.
- Cortez-Mondaca, E., J. Pérez-Márquez, and F. Bahena-Juárez. 2012. Control biológico natural de gusano cogollero (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz y sorgo en el norte de Sinaloa, México. Southwest. Entomol. 37: 423-428.
- DeLey, P., D. L. Tandingan, K. Morris, E. Abebe, O. M. Mundo, M. Yoder, J. Heras, D. Waumann, O. A. Rocha, A. H. Jay Burr, J. G. Baldwin, and T. Kelley. 2005. An integrated approach to and informative morphological vouchering of nematodes for applications in molecular barcoding. Philosophical Trans. Royal Soc. B. 360: 1945-1958.

- Dilcia-Hernández, F., and B. Linares. 1989. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Yaritagua, Venezuela. *Agron. Trop.* 39: 45-61.
- Eaton, E. R., and K. Kaufman. 2007. Kaufman Field Guide to Insects of North America. Hillstar ed. L. C., New York.
- Elósegui, C. O. 2006. Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana, Cuba.
- Estrada, V. O., C. J. Cambero, B. A. Robles, V. C. Ríos, C. C. Carvajal, A. N. Isiordia, and C. E. Ruíz. 2013. Parasitoids and entomopathogens of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Nayarit, Mexico. *Southwest. Entomol.* 38: 339-344.
- Fernández, F., and M. J. Sharkey. 2006. Introducción a los Hymenoptera de la Región. Neotropical Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Humboldt, Colombia.
- Fernández-Gayubo, S., and J. Pujade-Villar. 2015. Clase Insecta: Orden Hymenoptera. *Revista IDE@ - SEA.* 59: 1-36.
- Fuxa, J. R. 1982. Prevalence of viral infection in populations of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in southeastern Louisiana. *Environ. Entomol.* 11: 239-242.
- Fuxa, J. R. 1989. Fate of released entomopathogens with reference to risk assessment of genetically engineered microorganism. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 35: 12-24.
- Fuxa, J. R., and A. R. Richter. 2001. Quantification of soil-to-plant transport of recombinant nucleopolyhedrovirus: effects of soil type and moisture, air currents, and precipitation. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5166-5170.

- García-Gutiérrez, C., M. B. González-Maldonado and A. González-Hernández. 2013. Parasitismo natural de Braconidae e Ichneumonidae (Hymenoptera) sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Col. Entomol. 39: 211-215.
- García-Gutiérrez, C., C. M. Escobedo-Bonilla, and M. A. López. 2013. Infectivity of a Sinaloa native isolate of multicapsid nuclear polyhedrosis virus (SfMNPV) against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Southwest. Entomol. 38: 597-604.
- Garden, W. A., and J. R. Fuxa. 1980. Pathogens for suppression of the fall armyworm. Fla. Entomol. 63: 439-447.
- González, M. M., G. C. García, and H. A. González. 2014. Parasitismo y distribución de *Campoletis sonorensis* Cameron (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), parasitoides del gusano cogollero en maíz en Durango, México. Vedia 15: 47-53.
- Goulet, H., and J. T. Huber. 1993. Hymenoptera of the World: An Identification Guide to Families. Agriculture Canada, Ottawa, Ontario.
- Gutiérrez-Ramírez, A., A. Robles-Bermúdez, J. Cambero-Campos, C. Santillán-Ortega, M. Ortiz-Catón, J. M. Coronado-Blanco, and M. Campos-Figueroa. 2015. Parasitoides de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Encontrados en Nayarit, México. Southwest. Entomol. 40: 555-564.
- Hance, T., J. Van-Baaren, P. Vernon, and G. Boivin. 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annu. Rev. Entomol. 52: 107-126.
- Hay-Roe, M., Meagher, R., Nagoshi, R, and Newman, C. 2016. Distributional patterns of fall armyworm parasitoids in a corn field and a pasture field in Florida. Biological Control. 96: 48-56.

- Hochberg, M. E. 1989. The potential role of pathogens in biological control. *Nature* 337: 262-265.
- Jacques, R. P. 1974. Occurrence and accumulation of viruses of *Trichoplusia nii* in treated field tests. *J. Invertebr Pathol.* 23: 140-152.
- Johnson, N. F., and C. A. Triplehorn. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. 7th ed. Cengage Learning US.
- Jourdie, V., N. Alvarez, and T. C. Turlings. 2008. Identification of seven species of hymenopteran parasitoids of *Spodoptera frugiperda*, using polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion. *Agric. Forest Entomol.* 10: 129-136.
- Jourdie, V., E. Virla, H. Murillo, J. M. Bento, T. C. Turlings, and N. Alvarez. 2010. Phylogeography of *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae) and *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae), two primary neotropical parasitoids of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 103: 742-749.
- León-García, I., E. Rodríguez-Leyva, L. D. Ortega-Arenas, and J. F. Solis-Aguilar. 2012. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a insecticidas asociada a césped en Quintana Roo, México. *Agrociencia* 46: 279-287.
- Lezama-Gutiérrez, R., J. Jamm, J. Molina-Ochoa, M. López-Edwards, A. Pescador-Rubio, González-Ramírez, and M. E. Styer. 2000. Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Mexican states of Michoacan, Colima, Jalisco and Tamaulipas. Armyworm Symposium, Mexico.
- Martínez, A. M., D. Goulson, J. W. Chapman, P. Caballero, R. D. Cave, and T. Williams. 2000. Is it feasible to use optical brightener technology with a baculovirus bioinsecticide for resource-poor maize farmers in Mesoamerica? *Biol. Control* 17: 174-181.

- McLeod, P. J., S. Y. Young, and W. C. Yearian. 1982. Application of a baculovirus of *Pseudoplusia includens* to soybean: efficacy and seasonal persistence. *Environ. Entomol.* 11: 412-416.
- Molina, O. J. J. Hamm, R. Lezama-Gutierrez, M. López-Edwards, M. González-Ramírez, and A. Pescador-Rubio. 2003. A survey of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) parasitoids in the Mexican states of Michoacan, Colima, Jalisco and Tamaulipas. *Fla. Entomol.* 84: 31-36.
- Moraes, R., and J. Maruniak. 1997. Detection and identification of multiple baculoviruses using the polymerase chain reaction (PCR) and restriction endonuclease analysis. *Elsiever. J. Virol. Methods* 63: 209-217.
- Murúa, M., V. G. Virla, and V. Defago. 2003. Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) destinada a mantener poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides. *Boletín Sanidad Vegetal de Plagas* 29: 43-51.
- Olofsson, E. 1988. Dispersal of the nuclear polyhedrosis virus on *Neodiprion sertifer* from soil to pine foliage with dust. *Entomol. Exp. Appl.* 46: 181-186.
- Ordóñez-García, M., C. Ríos-Velasco, D. Berlanga-Reyes, C. Acosta-Muñiz, M. Salas-Marina, and J. Cambero-Campos. 2015. Reporte preeliminar de entomopatógenos del “gusano cogollero” *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Chihuahua, México. *Entomol. Mex.* 2: 241-246.
- Paliwal, R. L., G. Granados, H. R. Lafitte, and A. D. Violic. 2001. El maíz en los trópicos, mejoramiento de producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.
- Pantoja, A., and J. R. Fuxa. 1992. Prevalence of biotic control agents in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Folia Entomol. Mex.* 84: 79-84.

- Peng, F., J. R. Ritcher, and S. J. Johnson. 1999. Effect of heat-sensitive agents, soil type, moisture, and leaf surface on persistence of *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus. *Environ. Entomol.* 28: 330-338.
- Peñuelas, J., and I. Filellas. 2001. Phenology: responses to a warming world. *Science* 294: 793-795.
- Ríos-Velasco, C., G. Gallegos-Morales, J. Cambero-Campos, E. Cerna-Chávez, M. Del Rincón-Castro, and R. Valenzuela-García. 2011. Natural enemies of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Coahuila, México. *Fla. Entomol.* 94: 723-726.
- Saavedra-Aguilar, M. 2009. Géneros y especies de avispas de la familia Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonidae) del Estado de Hidalgo. Tesis de doctorado, Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- SAGARPA. 2015. Agenda Técnica Agrícola de Sinaloa. Segunda edición. México.
- SIAP-SAGARPA. 2014. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.siap.gob.mx/ventana.php?idLiga=1043&tipo=1>. Fecha de consulta: 10/02/2015.
- SIAP-SAGARPA. 2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do. Fecha de consulta: 03/08/2017.
- Thomas, E. D., C. F. Reichelderfer, and A. M. Heimpel. 1973. The effect of soil pH on the persistence of cabbage looper nuclear polyhedrosis virus in soil. *J. Invertebr. Pathol.* 53: 21-24.

- Valdez, J. B., F. Soto, and I. Osuna. 2012. Modelos de predicción tecnológica para maíz blanco (*Zea mays* L.) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith). *Agrociencia* 46: 399-410.
- Valincente, F. H. 1986. Occurrence of entomopatogenous nematode Mermithidae in fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), in Sete lagoas, MG. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 15: 391-393.
- Valladares, F., J. Peñuelas, and L. Calabuig. 2005. Impactos sobre los ecosistemas terrestres. Centro de Publicaciones. Ministerio de Medio Ambiente.
- Van Huis, A. 1981. Integrated pest management in the small farmer's maize crop in Nicaragua. *Meded. Landbou. Wageningen* 81-86.
- Wheeler, G. S., T. R. Ashley, and K. L. Andrews. 1989. Larval parasitoids and pathogens of the armyworm in Honduran maize. *Entomophaga* 34: 331-340.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and W. J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, pp. 315-322. *In* PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, Inc., New York.
- Young, S. 2001. Persistence of Virus in the Environment. Southern Cooperative Series Bull. s-301/s-265.
- Zar, J. 1998. Biostatistical analysis. Fourth Edition. International edition. Prentice Hall International, INC. New Jersey, USA. 663 pp.
- Zhang, Y. P., J. K. Uyemoto, and B. C. Kirkpatrick. 1998. A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. *J. Virol. Methods* 71: 45-50.

CAPITULO IV:

Persistence of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) in different agricultural soils from northern Sinaloa.

Persistence of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) in different agricultural soils from northern Sinaloa.

Miguel A. López¹, Ana Mabel Martínez-Castillo² and César Marcial Escobedo-Bonilla^{1*}

¹Instituto Politécnico Nacional - Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa. Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes 250, Col. San Joaquín. Guasave, Sinaloa, México. C.P. 81101.

²Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Gral. Francisco J. Múgica S/N, Col. Ciudad Universitaria, C.P. 58030 Morelia, Michoacán, México.

*corresponding author: cesar_escobedomx@yahoo.com

4.1. ABSTRACT

Collection of *Spodoptera frugiperda* larvae (1 to 5 instar) and soil in maize crops was done in Guasave Sinaloa, Mexico, during 2016 and 2017 in order to find its nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) without success. Hence, the aim of this study was to determine under experimental conditions the effect of environmental and/or soil physicochemical factors on infectivity/persistence of SfMNPV occlusion bodies (OBs). Experiments were done using an axenic offspring of fall armyworm larvae, three different soil textures analyzed for pH and organic matter (OM) content and a SfMNPV isolate from Nicaragua. The lethal OB concentration was determined after artificial diets containing different soils and three OB concentrations were fed to batches of second instar larvae. Also the effect of three different soil textures (clay, silt, sand) under three environmental conditions (natural, 90% shade net and in the dark) on infectivity/persistence of the lethal OB concentration was evaluated. Further, the effect of pH (7.1, 7.5, 8.0) on clay soils on infectivity/persistence of a lethal OB concentration under the same three environmental conditions was done. The experiments were done in triplicates for five months, recording mortality and SfMNPV infection every month during 8 days post inoculation (pi). Larvae mortality was highest ($\geq 97.7\%$) at the beginning of the experiments when OBs were recently added to the different soils and these were just exposed to the various environmental conditions. After 30 days, larvae mortality showed reductions, with the natural condition having the sharpest declines. In contrast, controlled conditions showed the least reductions in larvae mortality with time. Here, soils were protected from sunlight, UV radiation and temperature variations. Clay texture and pH 8.0 were the soil properties associated to the highest larvae mortality reductions, thus influencing OB infectivity/persistence. It was concluded that direct sunlight, UV radiation and high temperature, combined with clay texture and pH 8.0, negatively influenced SfMNPV OB infectivity/persistence in agriculture soils in the region, thus reducing mortality of *S. frugiperda* larvae in the field.

4.2. INTRODUCTION

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is the main pest in maize crops. It is a poliphagous insect of great economic importance in several countries in the American continent (Castro-Quezada et al., 2019). In northern Sinaloa (México), pest control is done by applying chemical insecticides up to three times per culture season (spring-summer or fall-winter) in order to thwart this insect (INIFAP, 2017). This practice leads to several risks to human health, increased pest resistance to chemical insecticides and massive deaths of beneficial insects (Mahr et al., 2008; Fernández, 2002; León-García et al., 2012). This situation has promoted the search for alternative ways of pest control that are ecologically safe such as the use of entomopathogen agents. Among them, baculoviruses (*Baculoviridae*) are a promising group of double-stranded DNA pathogens that are used as bioinsecticides in various countries around the world. These viruses are highly pathogenic, highly specific and are found in nature, which make them an attractive asset due to their potential as an effective pest control tool against the fall armyworm and are suitable to use in the field (Moscardi, 1999; Szeweczyk et al., 2006; Murillo et al., 2007; Chaparro-Rodríguez, 2008). The *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) is a member of the *Baculoviridae* and it has been isolated from wild populations of fall armyworm in several countries in the American continent (Shapiro et al., 1991; Berretta et al., 1998; Escibano et al., 1999; Barrera et al., 2011; Duarte-daCosta et al., 2019) including México (Ríos-Velasco et al., 2011; García-Gutiérrez et al., 2013).

It is known that baculovirus persistence depends on a series of factors including the presence of a resistance virus structure in crop fields called occlusion bodies (OBs). These represent an important adaptation to conditions outside its host (Fuxa, 2004). Such OBs are found in agriculture soils and in the lower parts of plants near the soil (Ríos-Velasco et al., 2011). The OBs are also present within carcasses and tissues of infected larvae lying on plant leaves (Berretta et al., 1998; Escibano et al., 1999; Barrera et al., 2011). Crop soils are the main steady

reservoir for these viral structures (Jones et al., 1993; Young, 2001), which can be transported from the surface of leaves to the soil by gravity, raindrops, wind and other arthropods (Hochberg, 1989; Fuxa and Ritcher, 2001). Nonetheless, various environmental factors interfere with virus transport from soils to plant surfaces where larval pests feed and can become infected by ingesting OBs. Environmental factors that may affect OBs infectivity include temperature and UV light, that might reduce their persistence in soil and their ability to cause infection upon relatively short exposure times (Hajek & Shapiro, 2017).

In previous studies, Murillo et al. (2007) observed that OBs of the *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) were detected in 34% of greenhouse soil samples (N = 267), however the substrate pH (between 8 and 9) was identified as a major factor influencing the abundance and genetic composition of the OB population. Other factors that could affect OBs activity or their persistence include soil texture, and excessive use of agrochemicals, making soils alkaline and destroying its microbiota (Murillo et al., 2007; Fuxa and Ritcher, 2001; Jaques, 1964; Olofsson, 1988; Thompson et al., 1981).

In Mexico, the presence of SfMNPV OBs in soil samples have been detected in maize fields of Coahuila, Nuevo Leon, Nayarit (Ríos-Velasco et al., 2011) and Chiapas (T. Williams pers. com.) states. However, after an intensive sampling of soil samples (undpublished data) and *S. frugiperda* larvae (n = 19000) in maize fields in Guasave, Sinaloa, no baculovirus were found (López et al. 2018). These authors mentioned that this may be attributed to several factors in the collection areas: high solar radiation and extreme temperatures, and the excessive use of pesticides altered soil pH which may affect the natural environment of the pathogens reservoirs. This finding stirred the search for clues to explain this phenomenon based on the influence of some environmental and/or physicochemical factors on the infectivity and/or persistence of SfMNPV OBs in different soil types. Hence, the aim of the present study was to determine the effect of environmental and physicochemical factors on the infectivity/persistence of a strain of SfMNPV OBs under experimental conditions.

4.3. MATERIAL AND METHODS

Insect collection and breeding. Larvae of *S. frugiperda* was done in maize and sorghum crops at fields located in the municipalities of Guasave (N 25°34'28" y O 108°28'14") and Sinaloa de Leyva (N 25°49'22" y O 108°13'24"), Sinaloa, México, in the years 2016 and 2017. Larvae collection was done when crops were 20 - 40 cm in height since the pest has large populations at this crop stage.

Collected larvae were individually placed in plastic cups (30 mL, Solo®, Mexico) and were taken to the Laboratory of Pathology and Molecular Diagnostics (IPN-CIIDIR Sinaloa), where they were given an artificial feed especially formulated for noctuid moths (Dilcia-Hernández et al., 1989; Murúa et al., 2003). Environmental conditions were set as follows: temperature 28 °C, relative humidity 60% and photoperiod 12 h. These conditions are optimum for the normal development of the insect (García-Gutiérrez et al., 2013). These insects were used to start an axenic breed of *S. frugiperda* to propagate *in vivo* a isolate of SfMNPV and to have insects to perform further bioassays.

Virus. The isolate of SfMNPV used in this study was a kind donation from Dr. Trevor Williams (INECOL, Veracruz, Mexico). The strain comes from Nicaragua and it was biological and molecularly characterized by Escribano et al. (1999). The virus was detected by PCR as described below and it was propagated in 3rd - 4th instar *S. frugiperda* larvae through several generations in order to get plenty virus to perform the experiments.

DNA extraction. Virus OBs or insect tissues (\approx 100 mg) were placed in 1.5 mL microtubes and added 500 μ l CTAB buffer (Tris HCl 100 mM pH 8.0, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, 3% CTAB [w/v], 0.2% [v/v] β -mercaptoethanol) (Zhang et al., 1998). Briefly, tissues were minced, incubated 30 min at 60 °C; then added 600 μ L chloroform:isoamyl alcohol (24:1), stirred and centrifuged for 10 at 13000 x g. The supernatant was collected and transferred to a new tube where \approx 600 μ L cold isopropanol was added, gently mixed by inversion and centrifuged as before. The supernatant was discarded and the pellet washed with cold 70% ethanol, stirred

and centrifuged. The resulting pellet was dried, dissolved in 70 μ L ultrapure water and stored at -20 °C until used for PCR analyses.

Diagnosis of SfMNPV and *S. frugiperda* DNA. The virus was detected by PCR amplification of a 575 base pairs (bp) fragment of the polyhedrin gene (polh), which is highly conserved within baculoviruses. Primers used were SfMNPV Forward 5'- TACGTGTACGACAACAAGT -3', and SfMNPV Reverse 5'- TTGTAGAAGTTCTCCCAGAT -3' (de Moraes & Maruniak, 1997).

Internal control PCR was done using in-house primers designed on a fragment of the *S. frugiperda* cytochrome oxidase I (COI) partial gene sequence (GenBank acc. no. JQ571459.1). Primers used were SfCOI Forward 5'- TGGAGCAGGAACTGGATGAA -3', and SfCOI Reverse 5'- CCTGCAGGATCGAAAAATGA -3'. The expected PCR product was 312 bp long.

For both detection assays, PCR reactions were done in 25 μ L using ultrapure water, 1X PCR buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs (Bioline, Boston, MA), 0.02 mM of each respective primer set (forward or reverse), 0.8 U Taq DNA polymerase (Bioline, Boston, MA), and 1 μ L extracted DNA as template.

The polh PCR conditions were initial denaturation (95 °C, 4 min) followed by 35 cycles of denaturation (95 °C, 60 s), annealing (48 °C, 70 s) and extension (72 °C, 90 s), with a final extension step (72 °C, 5 min). The COI PCR assay conditions were: initial denaturation at 94 °C for 4 min, then 35 cycles at 94 °C for 30 s, annealing, 58 °C for 60 s, extension, 72 °C for 60 s and a final extension step of 72 °C for 10 min. Reactions were run in a thermal cycler (C1000 touch, dual thermocycler Bio-Rad®).

For both assays, PCR products were resolved in 1% TAE agarose gel stained with gelred (1.5 μ L/mL⁻¹ in 5X orange G loading buffer) and documented in a UV transilluminator (Gel doc EZ gel documentation system, Biorad). Positive (SfMNPV DNA) and negative (H₂O) controls were included.

Measurement of environmental factors

Soil collection and analyses. Soil samples (n= 10 per month; total n= 120) were collected during 2016 in agriculture areas in northern Sinaloa. Samples were taken to the lab where they were dried protected from the sun. The pH was measured with a pH meter (Hanna 9125®), organic matter content was determined by the method of Wakley and Black (1934) and texture was determined by the triangle and Bouyoucos methods (Bouyoucos, 1962). Three main soil textures were found: sand (51-25-24), silt (33-46-21) and clay (20-35-45) (numbers within parentheses are percentages of sand-silt-clay, respectively).

Environmental parameters.

Temperature - in natural conditions, maximum and minimum temperatures were daily recorded using a maximum-minimum thermometer (Brannan®). In 90% shade net conditions, temperature was measured using a glass thermometer (Duve®). In controlled conditions, temperature was set at 25 ± 1 °C with air conditioned throughout the duration of the experiment.

Sunlight - in natural conditions sunlight was available as it was in the environment. In 90% shade net, a cage of 3 x 2 m (6 m²) was covered by the shade net and inside it the experiments were done. Here, sunlight was blocked 90% with the net. In controlled conditions, no sunlight was available since it was done in a closed experimental room in darkness.

UV A/B radiation - it was daily measured with a digital radiometer (Solarmeter® model 5.0 USA) in milliwatts cm⁻² in all three environmental conditions. The UV scale (mWcm⁻²) categories were: low (0 - 2), moderate (3 - 5), high (6 - 7), very high (8 -10) and extremely high (11) (Solarmeter, USA).

Experimental design

Lethal concentration of SfMNPV OBs. A bioassay was done to determine the OB concentration in soil that produced \approx 90% mortality to second instar *S. frugiperda* (n= 1080). The concentrations used were 1×10^4 , 1×10^6 and 1×10^8 OBs/mL. Each concentration was diluted in 1 mL H₂O and 20 g of soil, previously

sterilized by autoclave, were added. Additionally, 3 mL of sterile distilled water was added to soils in order to homogenize the distribution of OBs into the soils. Three soil textures (sand, silt and clay) with pH \approx 7.5 and known organic matter content were used. Then each of the soils (20 g) containing any of the three OB concentrations were separately included in an artificial diet (200 g). A total of nine different diets were prepared with the three different OB concentrations and the three different soil textures.

Each of the nine diets were used to fed to 30 second instar *S. frugiperda*. A mock infected diet containing only soil was included. All larvae were previously starved for 12 h before the experiment. The larvae were individually placed in 30 mL plastic cups (Solo®, Mexico) and maintained under experimental conditions: 25 °C, 60% relative humidity and darkness. Mortality was recorded daily from the first day to 8 post inoculation (pi). Each treatment was done by triplicate.

Effect of soil texture on virus infectivity/persistence. In this experiment three soil textures were used: (1) sand at pH 7.0, (2) silt at pH 7.5 y (3) clay at pH 8.0. Each soil was previously sterilized and then mixed with the selected OB concentration from the previous experiment. The soils with the lethal OB concentration were kept under three different conditions: (i) natural conditions, (ii) under a 90% shade net (Hortomallas™) and (iii) indoor and total dark (controlled conditions) for four months. Soils were kept moistened by adding water (4 mL per 20 g soil) every day under natural conditions, every third day under 90% shade net and every week under controlled conditions. Every 30 d during four months, a sample of each soil (20 g) was taken and used to prepare a diet (200 g) to feed 30 instar II *S. frugiperda* larvae at a ratio of 1 cm³ feed per larvae (previously starved for 12 h). During the experiments, larvae were maintained in 30 mL plastic cups (Solo®, Mexico). The infectivity/persistence of SfMNPV was determined as function of larvae mortality and infection from day 1 to 8 pi. A mock infected treatment was included using a diet with soil only. Every treatment was done in triplicate using a total of 5400 second instar *S. frugiperda*. At the end of the experiment, 30 dead *S. frugiperda* larvae from each soil type and condition were

processed for DNA extraction and PCR assays were done to confirm SfMNPV infection. Likewise, all surviving larvae were submitted to the same procedures in order to know whether they were infected with SfMNPV.

Effect of pH in clay soils on virus infectivity/persistence. Simultaneously, another bioassay was done only with clay soil at three pH values (7.0, 7.5 and 8.0) using the same three experimental conditions described below. At the end of the experiment, 30 dead *S. frugiperda* larvae from each pH and condition were processed for DNA extraction and PCR assay was done to confirm SfMNPV infection. Likewise, all surviving larvae were analyzed by PCR to know whether they were infected with SfMNPV.

Statistical analyses. Mortality data were used to make frequency histograms to determine the effect of soil textures, pH and experimental conditions in virus infectivity/persistence with time. The same analyses were done between pH in clay soil to determine mortality differences at different times.

4.4. RESULTS

Lethal concentration of SfMNPV OBs. The infectivity and mortality of the three tested OB concentrations showed a doses-dependent mode. The concentration 1×10^8 OBs was able to kill $\geq 98\%$ of challenged larvae in the three different soil textures. The concentration 1×10^6 OBs killed an average of 79% larvae. In contrast, the concentration 1×10^4 OBs had mean larvae mortality of 49% (Figure 10 a, b, c).

In all concentrations, clay soil showed the highest mortalities (56, 86 and 100% at 1×10^4 , 1×10^6 and 1×10^8 OBs/mL⁻¹, respectively). Silt soil had intermediate mortalities at concentrations 1×10^4 (49%) and 1×10^6 OBs (81%), while at 1×10^8 it showed the lowest mortality (96%). Sand soil showed the lowest mortality at concentrations of 1×10^4 (41%) and 1×10^6 OBs (70%), whereas at 1×10^8 OBs it had slightly higher mortality (99%) than silt soil (Table 3).

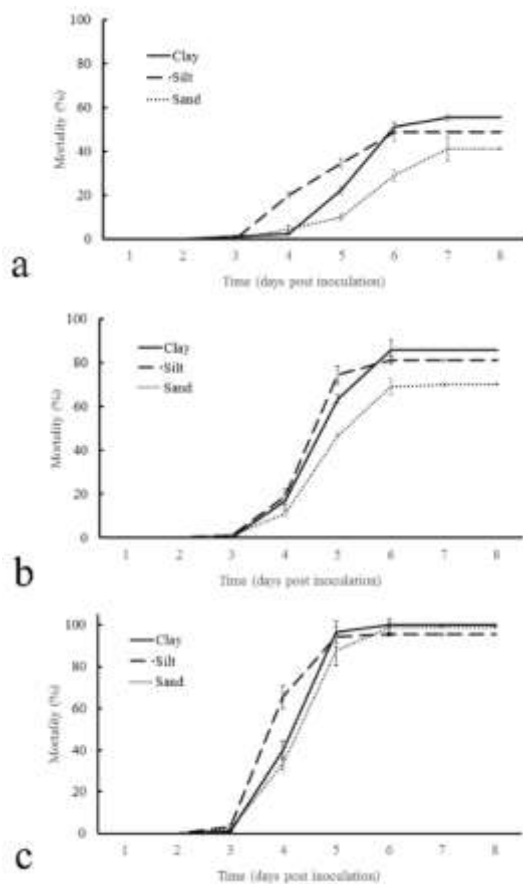


Figure 10. Mortality of second instar *S. frugiperda* larvae due to three SfMNPV OB concentrations: (a) 1x10⁴ OBs/mL⁻¹; (b) 1x10⁶ OBs/mL⁻¹ and (c) 1x10⁸ OBs/mL⁻¹ in three different soil textures.

Table 3. Larvae mortality percentage in three soil types using three OB concentrations.

SOIL	CONCENTRATION	MORTALITY (%)
CLAY	1x10 ⁴	56
	1x10 ⁶	86
	1x10 ⁸	100
SILT	1x10 ⁴	49
	1x10 ⁶	81
	1x10 ⁸	96
SAND	1x10 ⁴	41
	1x10 ⁶	70
	1x10 ⁸	99

Effect of soil texture on virus infectivity/persistence.

In this experiment, natural conditions had a maximum temperature of 35 °C and a minimum of 18 °C. The maximum UV radiation recorded was 6 mWcm⁻² and the minimum was 1 mWcm⁻². In the 90% shade net condition, the maximum and minimum temperatures were 34 and 17 °C, respectively. Here, the UV range was between 4 mWcm⁻² and 0.3 mWcm⁻². The controlled conditions were set at constant temperature of 25 °C and the UV radiation was 0 mWcm⁻², since this condition was carried out in a dark room provided with air conditioned.

The natural conditions showed the strongest reduction in larvae mortality with time of the three environmental conditions tested. Also, mortality was the lowest with any of the three soil textures. After five months, clay was the texture with the highest reduction in mortality (17%), followed by sand (24%) and silt was the texture with lowest reduction in mortality (36%) with time (Figure 11).

Soils under 90% shade net condition showed a lower mortality trend with time than those under natural conditions, and mortality between textures was somewhat similar. After five months, clay was the texture with the highest mortality reduction with time (57%) followed by silt (61%) and sand was the texture with lowest reduction in mortality (63%) (Figure 12).

Soils under controlled conditions had the highest mortality trend of the three conditions tested. After five months, clay was the texture with the highest mortality reduction (75%) followed by silt (90%) and sand had the lowest mortality reduction (93%) (Figure 13).

In this experiment, all dead larvae analyzed by PCR were infected with SfMNPV. All surviving insects were negative to the virus except for five from the natural condition and clay soil at months 3 (n= 1) and 4 (n= 4) (Table 4).

Table 4. Fall armyworm larvae mortality frequency using three soil types under three environmental conditions.

CONDITION	SOIL TYPE	TIME (MONTHS)									
		0		1		2		3		4	
		MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION
NATURAL	SAND	89/90	89/90	81/90	81/90	75/90	75/90	49/90	49/90	22/90	22/90
	SILT	90/90	90/90	79/90	79/90	70/90	70/90	48/90	48/90	32/90	32/90
	CLAY	89/90	89/90	67/90	67/90	52/90	52/90	34/90	35/90	15/90	19/90
90% SHADE NET	SAND	89/90	89/90	81/90	81/90	78/90	78/90	67/90	67/90	57/90	57/90
	SILT	90/90	90/90	85/90	85/90	80/90	80/90	67/90	67/90	55/90	55/90
	CLAY	89/90	89/90	76/90	76/90	65/90	65/90	55/90	55/90	51/90	51/90
CONTROLLED	SAND	90/90	90/90	89/90	89/90	88/90	88/90	88/90	88/90	84/90	84/90
	SILT	90/90	90/90	90/90	90/90	87/90	87/90	86/90	86/90	81/90	81/90
	CLAY	88/90	88/90	82/90	82/90	74/90	74/90	72/90	72/90	68/90	68/90

Table 5. Fall armyworm larvae mortality using clay soil at three different pH levels under three environmental conditions.

CONDITION	pH	TIME (MONTHS)									
		0		1		2		3		4	
		MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION	MORTALITY	INFECTION
NATURAL	7.1	90/90	90/90	89/90	89/90	74/90	74/90	66/90	66/90	51/90	51/90
	7.5	90/90	90/90	83/90	83/90	67/90	67/90	57/90	57/90	49/90	49/90
	8.0	90/90	90/90	90/90	90/90	70/90	70/90	54/90	54/90	41/90	41/90
90% SHADE NET	7.1	89/90	89/90	90/90	90/90	84/90	84/90	80/90	80/90	74/90	74/90
	7.5	90/90	90/90	90/90	90/90	87/90	87/90	81/90	81/90	74/90	74/90
	8.0	90/90	90/90	90/90	90/90	82/90	82/90	71/90	71/90	65/90	65/90
CONTROLLED	7.1	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90
	7.5	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90
	8.0	89/90	89/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	90/90	89/90	89/90

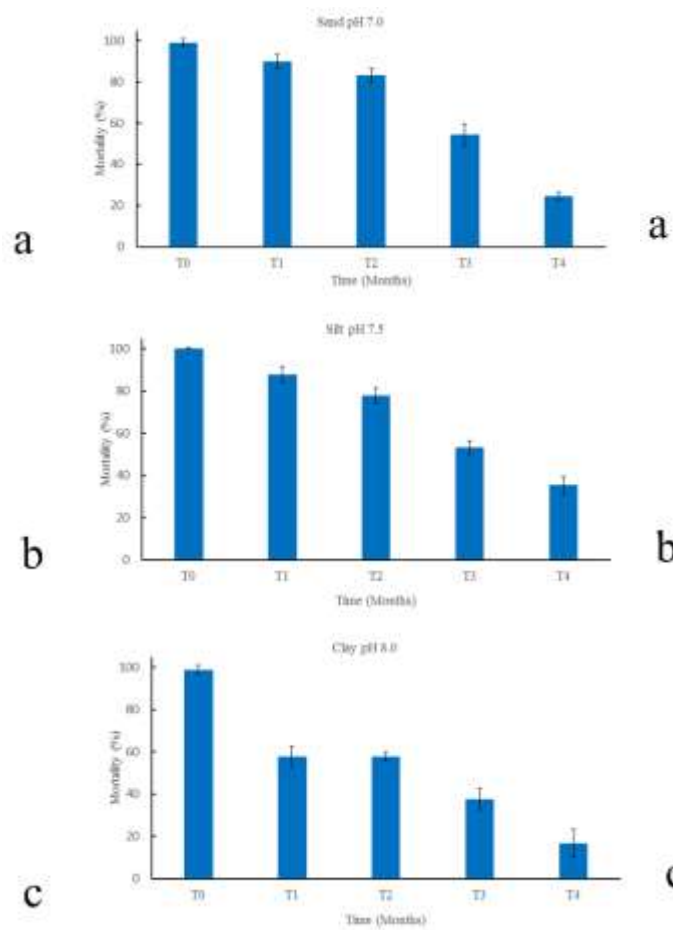


Figure 11. Natural conditions. Larval mortality after 4 months of OBs incubation in three soil textures.

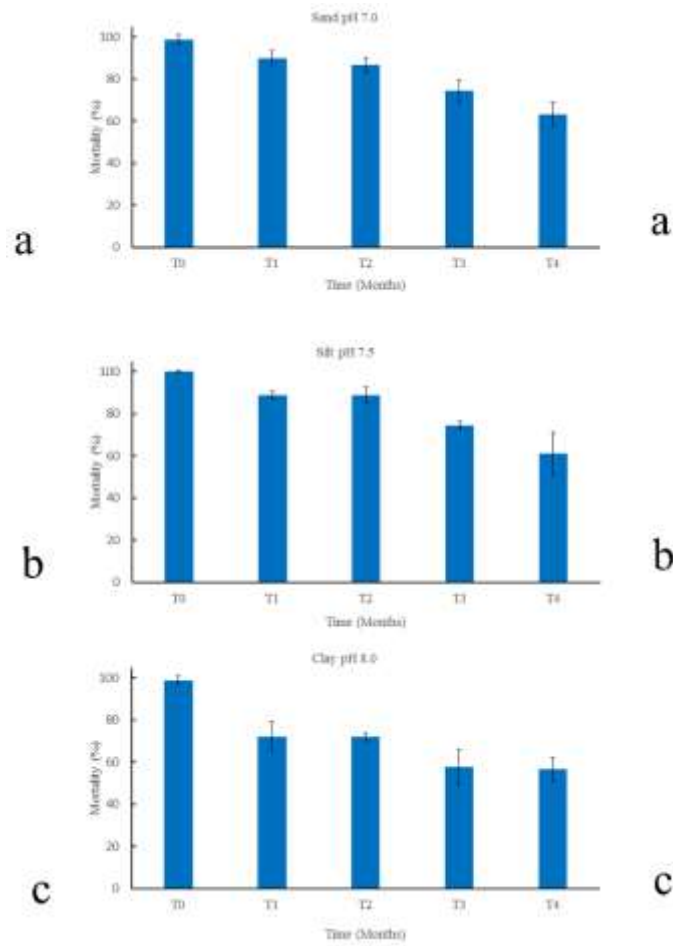


Figure 12. 90% Shade net. Larval mortality after 4 months of OBs incubation in three soil textures.

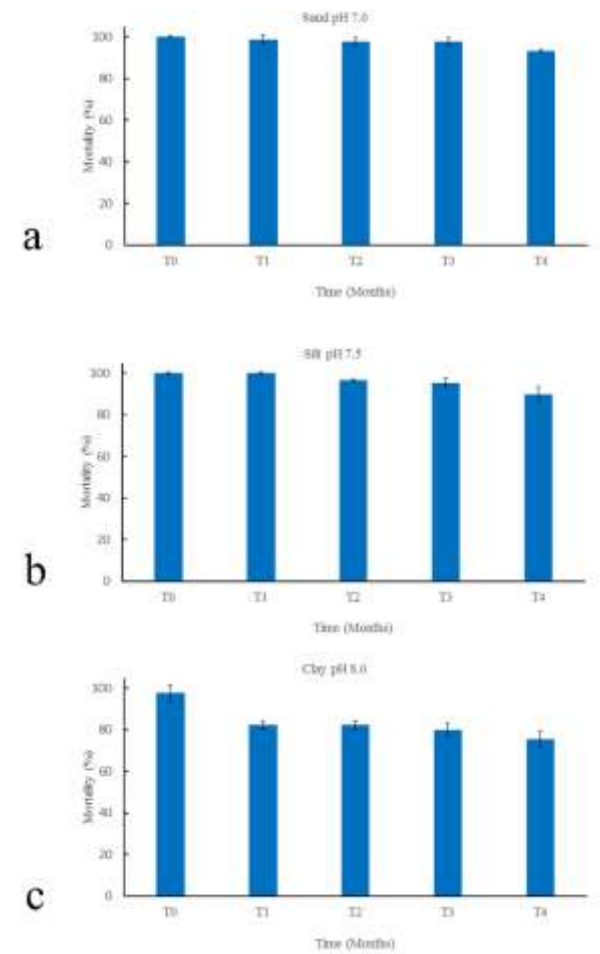


Figure 13. Controlled conditions. Larval mortality after 4 months of OBs incubation in three soil textures.

Effect of pH in clay soils on virus infectivity/persistence.

According to previous results, clay was the texture with most reduction on OB infectivity/persistence. Therefore, this texture was used to determine the effect of pH on SfMNPV OB infectivity/persistence.

In this experiment, natural conditions had temperatures between 35 to 21 °C, respectively. The UV radiation range was between 6 mWcm⁻² and 1 mWcm⁻². In the 90% shade net condition, temperature range was 34 to 20 °C; whereas the UV range was between 4 mWcm⁻² and 1 mWcm⁻². In the controlled conditions, temperature was constant at 25 ± 1 °C and the UV record was 0 mWcm⁻², since this condition was carried out in a dark room provided with air conditioned.

Natural conditions showed the sharpest reduction in larvae mortality with time of the three environmental conditions tested using clay soil at three different pH. After four months, clay at pH 8.0 showed the highest reduction in mortality (46%), followed by pH 7.5 (54%) and pH 7.0 had the lowest reduction in mortality (56%) (Figure 14).

Under 90% shade net condition, larvae mortality had a lower mortality trend compared to natural conditions in all three pH tested and mortality between textures was somewhat similar. After five months, clay soil at pH 8.0 showed the highest mortality reduction with time (72%) followed by pH 7.1 and 7.5 (82% each) (Figure 15).

In controlled conditions (kept indoors and in dark) clay soils at different pH had the highest mortality trend of the three conditions tested. After five months, all three pH (7.0, 7.5 and 8.0) showed high mortalities (99, 100, 99%, respectively) (Figure 16). In this experiment, all dead larvae analyzed by PCR were infected with SfMNPV and all surviving insects were negative to the virus (Table 4b).

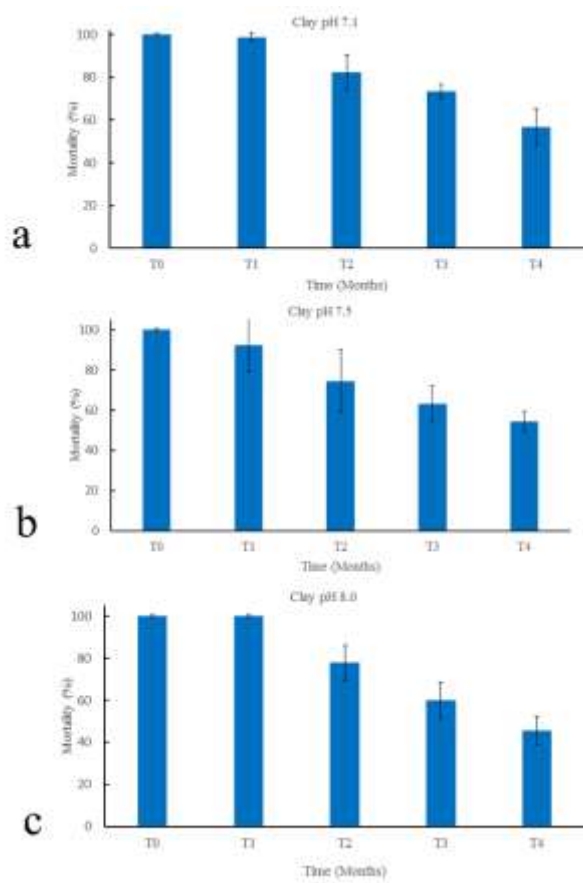


Figure 14. Natural conditions. Mortality after 4 months incubation OB in clay soil and three pH.

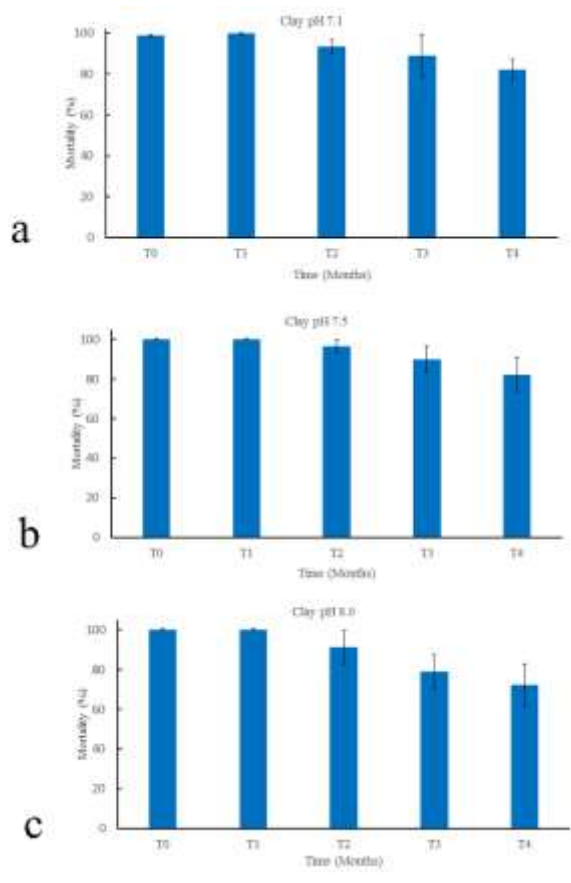


Figure 15. 90 % Shade net. Mortality after 4 months incubation OB in clay soil and three pH.

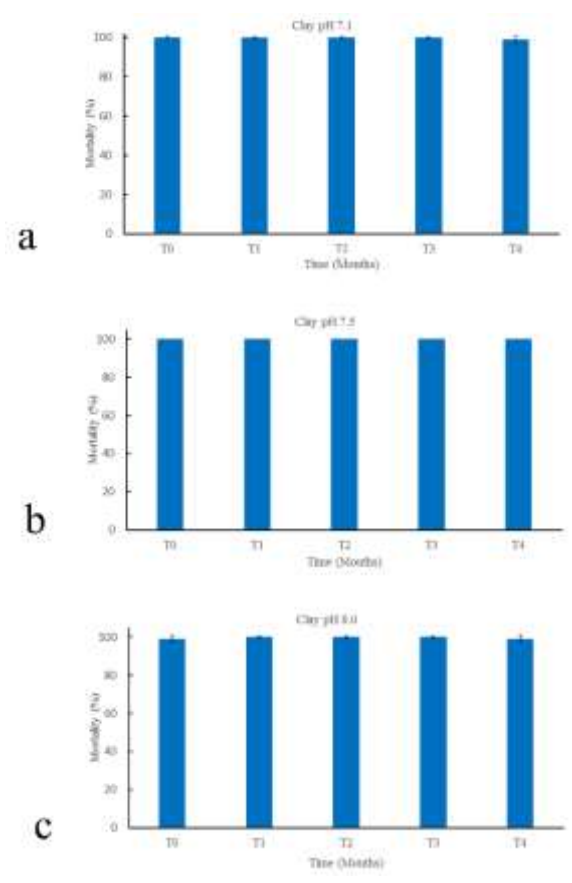


Figure 16. Controlled conditions. Mortality after 4 months incubation in clay soil and three pH.

4.5. DISCUSSION

In this study the effect of environmental conditions such as direct sunlight, moderate to high UV radiation (3 - 6 mWcm⁻²) and high temperature (35 °C) were shown to have a negative influence on SfMNPV OB infectivity/persistence in soil. Further, clay texture and pH 8.0 when combined with natural conditions, significantly reduced OB infectivity/persistence.

The lethal OB concentration was 1x10⁸ mL⁻¹, which killed over 98 % of the challenged larvae. The OB concentration had a dosis-dependent mortality relationship. This result is different from that of Infante-Rodríguez et al. (2013) who reported that SfMNPV concentrations (1X10⁴, 1X10⁵ and 1X10⁶ OBs/mL⁻¹) added to soils and into a diet caused no mortality to second instar *S. frugiperda*. A study reported by Ríos-Velasco et al., (2011) had results similar to those of the present study. They reported mortalities from 82 to 100% in second instar *S. frugiperda* using native soils containing SfMNPV OBs (2.3X10⁴ and 5.7X10² OBs/mL) and added into insect diets. Differences in mortality can be due to variations in pathogenicity and virulence of the virus strains used.

According our results, direct sunlight exposure and UV radiation may be the main factors having a negative impact on OB infectivity/persistence in the field. UV radiation was measured daily and it increased as the experiment progressed (1 to 6 mWcm⁻²). This increase in UV radiation probably was because the experiments started in January (winter) and ended by May (end of spring). Under natural conditions, mortality of *S. frugiperda* larvae was ≤ 35% at the end of the experiment (4 months) whereas under controlled conditions (indoors, with controlled temperature [25 - 27 °C] and in the dark) larvae mortality was ≥ 75%, even in alkaline soils. These results are in agreement with those reported by Cuartas-Otálora et al. (2019) who determined that infection efficacy of virus formulations was directly correlated with exposure time (≥ 6 h) to UV radiation. The lesser exposure time to UV, the higher efficacy of virus formulation. In contrast, non-formulated viruses exposed to UV radiation had infection efficacy reduced up to 15%.

Clay soil at pH 8.0 under natural conditions showed the highest mortality reduction compared to the other soil textures and conditions. These results suggest that direct sunlight, UV radiation, high temperature and alkaline pH have a negative influence in OB infectivity/persistence in agriculture soils with time. These results are in agreement with previous reports showing that these factors, particularly UV radiation, can inactivate viruses between 2 - 6 h after exposure, thus reducing larvae mortality up to 50 % (Burges, 1998; Behle et al., 2000; Lacey & Arthurs, 2005; Villamizar et al., 2009; Behle & Popham 2012; Young, 2001; Sporleder et al., 2008; Michalsky et al., 2008; Roberts et al., 2011).

A study done by Murillo et al. (2007) determined that mortality induced in bioassays was negatively correlated with soil pH (7 - 9). In the present study, it appears that alkaline pH (8.0) negatively influenced OB infectivity/persistence in soil, since at this pH, *S. frugiperda* larvae displayed the lowest mortalities upon SfMNPV OB infection compared to pH 7.0 or 7.5, respectively. It is possible that slightly alkaline soils may help denature the polyhedrin matrix covering OBs. This may resemble the denaturation process of OBs undergone in the digestive tract of insects during the SfMNPV infection process (Bianchi, 2001; Tsukui et al., 2019).

The presence of saline, alkaline clay soils which are the dominant type in Guasave, may facilitate the denaturation of OBs protein matrix along with high temperatures, direct sunlight and moderate to high UV radiation values. These soil and environmental factors may contribute to the reduced infectivity/persistence of virus OBs in crops during the culture season. In contrast, soils with neutral pH (7.0, 7.5), cooler temperatures and low UV radiation values may contribute OBs to retain their infectivity/persistence in soils for longer time periods (Fuxa & Richter, 2001; Murillo et al., 2007).

The present study showed that certain environmental and soil factors present in maize fields in Guasave, Sinaloa affect the infectivity/persistence of SfMNPV OBs. This may help determine the best time of the culture cycle in which virus entomopathogens can be applied as part of an integrated pest management

strategy. According to these results, such season would be during fall-winter, when temperatures are cool (≤ 26 °C) and UV radiation is low (≤ 3 mW cm⁻²).

More studies are required involving agricultural practices, chemical pesticides and fertilizers used in the region to determine their effect on entomopathogens ecology in the fields.

4.6. CONCLUSIONS

The OB concentrations used had a dose-dependent effect. The lethal concentration of 1×10^8 OBs/mL⁻¹ caused infection and death of $\geq 98\%$ in second instar *S. frugiperda* larvae within 8 dpi. Infectivity/persistence of OBs was greatly reduced in clay soil and pH 8.0 under natural and 90% shade net conditions. Silt soil and pH 7.5 were the best soil conditions to preserve OB infectivity/persistence in natural conditions. Soils with neutral pH have the ability to maintain the persistence of OBs in field conditions, therefore it is possible to implement strategies that allow the use of NPVs for the control of *S. frugiperda* within an integrated management of maize cultivation in the region and to promote naturally-occurring epizootics.

4.7. ACKNOWLEDGMENTS

This study was financially supported with grants SIP20172239 and SIP20180486 from Instituto Politécnico Nacional. Special thanks to CONACyT Mexico for a scholarship and BEIFI-IPN scholarships 20172239 and 20180486 financially supported the first author.

4.8 REFERENCES

Barrera, G., O. Simón., L. Villamizar., T. Williams, & P. Caballero. 2011. *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. *Biological Control*. Elsevier. 58: 113-120.

- Behle, R. & H. Popham. 2012. Laboratory and field evaluations of the efficacy of a fast-killing baculovirus isolate from *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 109: 194-200.
- Behle, R., P. Tamez-Guerra, & M. Mcguire. 2000. Effect of Light Energy on Alkali-Released Virions from *Anagrapha falcifera* Nucleopolyhedrovirus. *Journal of Invertebrate Pathology*. 76. 120-126.
- Berretta, M., M. Rios, M. & S. deCap. 1998. Characterization of a nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera frugiperda* from Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology*. 71. 280-282.
- Bianchi. F. J. 2001. Process-based modeling of the control of beet armyworm, *Spodoptera exigua*, with baculoviruses in greenhouse chrysanthemum. Wageningen Universiteit. 143 p.
- Bouyoucus, G. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal*. 54: 464-465.
- Burges, H. 1998. Formulation of microbial biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic Publishers. Holanda. 412 p.
- Castro-Quezada, P. N. Quillay-Curay, & C. Bravo-Zúñiga. 2019. Molecular identification by PCR of the armyworm in southern Ecuador. *Maskana*. 10 : 41–45.
- Chaparro-Rodríguez, M. 2008. Efecto de dos formulaciones en la fotoestabilidad y eficacia de un granulovirus para el control de *Tecia solanivora*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Microbiología Industrial. Colombia. 111 p.
- Cuartas-Otálora, P., J. Gómez-Valderrama., A. Ramos., G. Barrera-Cubillos, & L. Villamizar-Rivero. 2019. Bio-Insecticidal Potential of Nucleopolyhedrovirus and Granulovirus Mixtures to Control the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Viruses*. 11: 1-14.

- De-Moraes, R, & J. Maruniak. 1997. Detection and identification of multiple baculoviruses using the polymerase chain reaction (PCR) and restriction endonuclease analysis. Elsevier. Journal of Virological Methods 63: 209-217.
- Dilcia-Hernández, F & Linares, B. 1989. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en Yaritagua, Venezuela. Agronomía tropical 39: 45-61.
- Duarte-daCosta, V., M. Alvarenga-Soares., F. Andrés-Rodríguez., D. Mendes-deSá., J.Cola-Zanuncio & F. Hercos-Valicente. 2019. Genetic identification and biological characterization of Baculovirus isolated from *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. Florida entomologist. 102: 59-64.
- Escribano, A., T. Williams., D. Goulson., R. D. Cave, J. W. Chapman, & P. Caballero. 1999. Selection of a Nucleopolyhedrovirus for Control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): Structural, Genetic, and Biological Comparison of Four Isolates from the Americas. Biological and Microbial Control. Journal of Economic Entomology. 92: 1079-1085.
- Fernández, J. 2002. Estimación de umbrales económicos para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo de maíz. Investigación Agrararia, Producción y Protección Vegetal. 17: 467-474.
- Fuxa, J.R., 2004. Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. Agriculture, Ecosystems and Environment. 103: 27-43.
- Fuxa, J.R & Richter, A.R., 2001. Quantification of soil-to-plant transport of recombinant nucleopolyhedrovirus: effects of soil type and moisture, air currents, and precipitation. Applied and Environmental Microbiology. 67: 5166–5170.
- García-Gutiérrez, C., C. M. Escobedo-Bonilla, & M. A. López. 2013. Infectivity of a Sinaloa native isolate of multicapsid nuclear polyhedrosis virus (SfMNPV)

- against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Southwest. Entomol. 38: 597-604.
- Hajek, E. & Shapiro, D. 2017. Ecology of Invertebrate Diseases. Wiley. New Jersey, Estados Unidos de América. 680 p.
- Hochberg, M.E., 1989. The potential role of pathogens in biological control. Nature. 337: 262–265.
- Infante-Rodríguez, D., G. Mercado-Vidal., J. Valenzuela., D. Muñoz, & T. Williams. 2013. Calibración de una técnica de incorporación de suelo artificial a dieta semisintética para detección de aislados del nucleopoliedrovirus multiple de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Entomología Mexicana. 2: 365-369.
- INIFAP, 2017. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Agenda Técnica Agrícola de Sinaloa. 216 p.
- Jaques, R.P. 1964. The persistence of a nuclear-polyhedrosis virus in soil. Journal of Insect Pathology. 6: 251–254.
- Jones, K.A., G.Moawad., D. J. Mckinley, & D. Grzywacz. 1993. The effect of natural sunlight on *Spodoptera littoralis* nuclear polyhedrosis virus. Biocontrol Science of Technology. 3: 189–197.
- Lacey, L. & S. Arthurs. 2005. New method for testing solar sensitivity of commercial formulations of the granulovirus of codling moth (*Cydia pomonella*, Tortricidae: Lepidoptera). Journal of Invertebrate Pathology. 90: 85-90.
- León-García, I., E. Rodríguez-Leyva., L. Ortega-Arenas, & J. F. Solís-Aguilar. 2012. Susceptibilidad de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a insecticidas asociada a césped en Quintana Roo, México. Agrociencia. 46: 279-287.

- López, M. A., A. M. Martínez-Castillo., C, García-Gutiérrez., E. Cortez-Mondaca, & C. M. Escobedo-Bonilla. Parasitoids and entomopathogens associated with the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Northern Sinaloa. *Southwestern Entomologist*. 43: 867-881.
- Mahr, D. L., P. Whitaker, & N. M. Ridgway. 2008. *Biological control of insects and mites: an introduction to beneficial natural enemies and their use in pest management*. Cooperative Extension Publishing. University of Wisconsin Extension. Wisconsin, Estados Unidos de América. pp. 70-82.
- Michalsky, R., P. Pfromm., P. Czermak., C. Sorensen, & A. Passarelli, A. 2008. Effects of temperature and shear force on infectivity of the baculovirus *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus. *Journal of Virological Methods*. 153: 90-96.
- Moscardi, F. 1999. Assessment of application of baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review Entomology*. 44: 257-289.
- Murillo R., D. Muñoz., M. C. Ruíz-Portero., M. D. Alcázar., J.E. Belda; T. Williams, & P. Caballero. 2007. Abundance and genetic structure of nucleopolyhedrovirus populations in greenhouse substrate reservoirs. *Biological Control*. Elsevier. 42: 216-225.
- Murúa, M., E. Virla, & V. Defago. 2003. Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) destinada a mantener poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas*. 29: 43-51.
- Olofsson, E. 1988. Environmental persistence of the nuclear-polyhedrosis virus of the European pine sawfly in relation to epizootics in Swedish pine forests. *Journal of Invertebrate Pathology*. 52. 119–129.
- Rios-Velasco, C., G. Gallegos-Morales., M. DelRincón-Castro., E. Cerna-Chávez., S. Sánchez-Peña, & M. Cepeda-Siller. 2011. Insecticidal Activity of Native

Isolates of *Spodoptera frugiperda* Multiple Nucleopolyhedrovirus from Soil Samples in Mexico. Florida Entomologist. 94: 716-718.

Roberts, P., J. More., J. Rott, & D. Lewin. 2011. Virus inactivation in albumin by a combination of alkali conditions and high temperature. Biologicals. 39: 67-72.

Shapiro, D., J. Fuxa., H. Braymer, & D. Pashley. 1991. DNA restriction polymorphism in wild isolates of *Spodoptera frugiperda* nuclear polyhedrosis virus. Journal of Invertebrate Pathology. 58: 96-105.

Sporleder, M., O. Zegarra., E. Rodríguez, & J. Kroschel. 2008. Effects of temperature on the activity and kinetics of the granulovirus infecting the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). Biological Control. 44: 286-295.

Szewczyk, B., L. Hoyos-Carbajal., M. Paluszek., I. Skrzecz, & Lobo-deSouza, M. 2006. Baculoviruses, re-emerging biopesticides. Elsevier. Biotechnology advances. 24: 143-160.

Thompson, G.C., D. W. Scott, & B. E. Wickman. 1981. Long term persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the Douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lepidoptera: Lymantriidae) in forest soil. Environmental Entomology. 10: 254–255.

Tsukui, K., C. Yagisawa., S. Fujimoto., M. Ogawa., R. Kokusho., M. Nozawa., H. Kawasaki., S. Katsuma, y M. Iwanaga. 2019. Infectious Virions of *Bombyx Mori* Latent Virus Are Incorporated into *Bombyx mori* Nucleopolyhedrovirus Occlusion Bodies. Viruses. 11: 316-326.

Villamizar, L., C. Espinel, & A. Cotes. 2009. Efecto de la radiación ultravioleta sobre la actividad insecticida de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Colombiana de Entomología. 35: 116-121.

- Walkley, A. & A. Black. 1934. An examination of the Degtareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. 37: 29-38.
- Young, S. 2001. Persistence of virus in the environment. En: Baur, M.E., Fuxa, J.R., (Eds.)- Factors affecting the survival of entomopathogens. Southern Cooperative Series Bulletin. Estados Unidos de América. pp. 201-265.
- Zhang, Y. P., J. K. Uyemoto, & B. C. Kirkpatrick. 1998. A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. *Journal of Virological Methods*. 71: 45-50.

CAPITULO V

DISCUSION INTEGRADORA

DISCUSION INTEGRADORA

El gusano cogollero es una plaga de gran importancia económica en los países y regiones donde se cultiva el maíz. Entre estos hay varios países africanos donde recientemente se ha reportado la plaga (Goergen *et al.*, 2016). En México, el estado de Sinaloa es de los más afectados (Sauceda-Acosta *et al.*, 2015). Debido a los impactos en producción y económico que las plagas ejercen sobre cultivos agrícolas para consumo humano, es necesario realizar estudios del manejo adecuado de estas, bajo estrategias alternativas al control químico.

Un factor determinante en la región norte de Sinaloa es el uso excesivo de insecticidas químicos de amplio espectro. Los insecticidas químicos provocan efectos negativos en la salud humana y el medio ambiente (García y Rodríguez, 2012). Los efectos adversos de los plaguicidas en organismos no blanco, especialmente sobre los enemigos naturales e insectos polinizadores, han recibido la mayor atención debido a su valor en el manejo integrado de plagas (MIP) y los procesos de polinización, respectivamente (Mahmood *et al.*, 2016). La destrucción de los enemigos naturales desencadenan problemas de plagas, ya que ellos contribuyen a regular sus poblaciones (Mesnage y Séralini, 2018). La pérdida de especies de parasitoides puede propiciar que plagas secundarias se conviertan en plagas primarias y con esto aumentan los problemas fitosanitarios agrícolas (Dahab *et al.*, 2017).

Los plaguicidas químicos representan un riesgo a la salud humana, ya que ingresan al cuerpo humano por inhalación, exposición oral o dérmica. Está bien documentado que son la causa principal de enfermedades como el cáncer, respiratorias, de piel, trastornos endocrinos y reproductivos (Blair *et al.*, 2014). Existen diversos métodos para proteger la salud humana y el medio ambiente de los insecticidas químicos utilizados en la agricultura, incluyendo el desarrollo y uso de formulaciones de insecticidas seguros y amigables con el ambiente, la aplicación de estrategias alternativas de control de plagas en un enfoque de MIP, como la resistencia de la planta huésped a las plagas y el biocontrol (Blair *et al.*, 2014).

El primer caso exitoso de biocontrol con parasitoides en México se registró en 1949, al introducir de la India y Pakistan cuatro parasitoides: *Amitus hesperidium* Silvestri (Hymenoptera: Platygasteridae), *Encarsia perplexa* Huang y Polaszek (Hymenoptera: Aphelinidae), *E. clypealis* y *E. smithi* para regular poblaciones de la mosca prieta de los cítricos *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae) (Rodríguez y Arredondo, 2012). A partir de entonces, muchos otros eventos de introducción de parasitoides han ocurrido tanto en México como en otras partes del mundo y muchos de ellos han sido casos de éxito completo o parcial (Bahena, 2008). Por ejemplo, las diferentes especies del género *Trichogramma* sp., que desde 1963 se crían en diferentes laboratorios localizados en la República Mexicana como consecuencia de su alta efectividad en la regulación de distintas plagas del orden Lepidoptera (Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2012).

Los parasitoides son un recurso potencial para el manejo de plagas. En el presente estudio se registraron seis especies (cuatro braconídeos, un ichneumonídeo y un taquínido) asociadas al gusano cogollero en cultivos de maíz, aunque los niveles de parasitismo fueron bajos (5- 18%) en comparación con otros estudios hechos en otras zonas de Sinaloa y de México. Las diferencias en la presencia e impacto de parasitoides sobre poblaciones de insectos plaga son muy importantes, ya que sugieren contrastes entre diversos factores ambientales, químicos y bióticos que podrían influir de manera negativa en la diversidad, abundancia y capacidad parasitoide de estas poblaciones.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, la hipótesis del trabajo se cumple, debido a que la presencia y abundancia de parasitoides de *S. frugiperda* fue mayor en maíz voluntario (el cual apareció en los meses de agosto y septiembre), que en las temporadas agrícolas primavera-verano y otoño-invierno. En este tipo de maíz se observó una mayor diversidad y abundancia de parasitoides, comparado con los cultivos comerciales presentes en las otras temporadas de muestreo, debido a que en el maíz voluntario no se realizan aplicaciones de insecticidas, por lo tanto los parasitoides no son afectados.

Las especies de parasitoides registradas en este trabajo representan un avance en el conocimiento de su diversidad y abundancia en el norte de Sinaloa. Estos datos nos permiten sugerir cuántas y cuáles podrían ser potenciales biocontroles de plagas, considerando su facilidad de reproducción y cría en laboratorio. La finalidad sería incorporarlas en un plan de manejo integrado contra el gusano cogollero en cultivo de maíz. De acuerdo a los resultados de este trabajo, una especie candidata podría ser *M. laphygmae*, debido a que fue la más abundante en todo el estudio en el área de estudio y estuvo presente en todo los muestreos que se hicieron en los años 2016 y 2017. Esto indica su amplia distribución y abundancia en las zonas maiceras del norte de Sinaloa.

En lugares donde se realiza agricultura de subsistencia (agricultura de temporal) se propicia la proliferación de enemigos naturales, debido a que las aplicaciones de insecticidas químicos son escasas o nulas y por ello hay mayor diversidad, y abundancia de entomofauna benéfica. Por el contrario, en lugares donde se realiza agricultura con sistemas de riego (agricultura intensiva), es necesario usar métodos de control que procuran resolver inmediatamente el problema de plagas agrícolas. Los monocultivos han generado estos problemas y las alternativas más usadas son el control por insecticidas químicos debido a su disponibilidad. Estos productos resuelven momentáneamente el problema, pero con el tiempo genera más problemas, incluyendo la resistencia de las plagas y el daño a organismos benéficos (García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012; Leyva-Morales *et al.*, 2014).

Los factores ambientales que componen al clima de una región (temperatura, luz solar, radiación UV, humedad relativa, textura del suelo, pH y contenido de materia orgánica), influyen en la presencia y actividad de parasitoides y entomopatógenos (Jones *et al.*, 1993; Young, 2001; Murillo *et al.*, 2007). En el presente estudio se demostró que la luz solar directa, la radiación UV y en menor grado, la textura y el pH alcalino del suelo, son los factores que determinan la persistencia de entomopatógenos en los suelos agrícolas.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, la hipótesis del trabajo se cumple, la cual menciona que los virus entomopatógenos (VE) presentan mayor persistencia en suelos limosos o arenosos con pH óptimos (7 - 7.5) para la agricultura en la región. Además, la hipótesis se confirma debido a que los suelos arcillosos con pH 7 - 7.5 no afectaron la persistencia de los VE bajo condiciones controladas, mientras que los suelos arcillosos ligeramente alcalinos (pH 8), tuvieron mayor efecto negativo en la persistencia de los VE, también en condiciones controladas.

Los nucleopoliedrovirus son un potencial controlador natural del gusano cogollero. El objetivo inicial de este trabajo fue buscar baculovirus nativos en suelos agrícolas del norte de Sinaloa, debido a que en esta región la información sobre este entomopatógeno es escasa. Este virus se usaría para determinar su patogenicidad y virulencia contra poblaciones axénicas del gusano cogollero.

Después de realizar una búsqueda muy intensiva de virus en larvas y muestras de suelo colectadas en cultivos de maíz, no se logró aislar el baculovirus específico para el gusano cogollero. En años anteriores el equipo de trabajo logró aislar el virus de larvas con síntomas de infección con un número mucho menor de colectas. Esta situación planteó la interrogante de cuales factores ambientales podrían tener influencia sobre la presencia y persistencia de SfMNPV en larvas y suelos agrícolas de la región.

El suelo es el principal reservorio de los nucleopoliedrovirus y juega un papel importante en el flujo de los OBs desde el suelo hasta la superficie de las hojas, donde son consumidos por las larvas del insecto (Fuxa y Richter, 2001). Por ello se evaluaron experimentalmente algunos factores del suelo como la materia orgánica, pH y textura, con la finalidad de determinar su efecto sobre la persistencia de los NPVs en el suelo. Estos factores fueron evaluados bajo diferentes condiciones ambientales, donde se midió la temperatura y radiación UV. Se sabe por estudios previos que el pH, la radiación UV y la temperatura son los principales factores que afectan la persistencia de virus en suelos (Jones *et al.*, 1993; Young, 2001).

El presente estudio encontró que el aislado usado de SfMNPV fue muy afectada por la textura arcillosa y pH alcalino (8.0) del suelo. Las condiciones ambientales que más afectaron la persistencia viral fue la temperatura alta (35 °C) y la radiación UV moderada a alta (3 - 6 mW cm⁻²). Estas condiciones son predominantes en los ciclos de cultivo de primavera-verano y los resultados indican que estas condiciones climáticas son desfavorables para la persistencia viral en los suelos. En contraste, las condiciones favorables para la persistencia de OBs y para que ocurran epizootias virales en campo son temperaturas frescas, alta humedad relativa, vientos moderados y frecuentes, y precipitaciones constantes (Hochberg, 1989; Fuxa y Ritcher, 2001; Mehrvar, 2009). Estas condiciones permiten el flujo del virus del suelo a las plantas y se presentan más comúnmente en el ciclo de cultivo otoño-invierno.

Las características del suelo en el estado de Sinaloa pueden ser afectados por el uso excesivo de fertilizantes químicos. Estos tienden a acidificar o alcalinizar los suelos y es posible que su uso frecuente explique en parte la ausencia de los NPVs en los suelos muestreados (Massah y Azadegan, 2016). Los resultados también sugieren que el uso de fertilizantes químicos nitrogenados alteran la microbiota del suelo y causan daños a los microecosistemas, ya que estos fertilizantes además de alcalinizar los suelos, matan la microbiota que contribuye al reciclaje de materiales mediante su participación en diferentes ciclos biogeoquímicos (Hendgen *et al.*, 2018). Por el contrario, se sugiere el uso de una fertilización orgánica (uso de abonos naturales), traería muchos beneficios al suelo, como aumentar la actividad de la microbiota, aprovechar residuos orgánicos, favorecer la retención de nutrientes y aumentar la capacidad de absorber agua (Cui *et al.*, 2018).

Las aportaciones del presente trabajo fueron explorar la diversidad natural de especies parasitoides y entomopatógenos en una zona donde los cultivos intensivos requieren grandes cantidades de químicos tóxicos o dañinos para controlar insectos plaga que reducen la producción de alimentos. También determinó experimentalmente las condiciones ambientales y del suelo que pueden

afectar negativamente la infectividad/persistencia de virus entomopatógenos nativos en los suelos de cultivo en el norte de Sinaloa y su posible aumento conforme los efectos del cambio climático se acentúen en el mundo.

Muchos productos agrícolas contienen altas concentraciones de insecticidas químicos, que pueden causar daños a los humanos como intoxicaciones, cáncer gástrico, daños renales y trastornos neurológicos (Vargas-Trejo y Coto-Cedeño, 2016; Matías y Barbona, 2017). Es importante garantizar la inocuidad de los alimentos mediante la sustitución de los agroquímicos por agentes de control biológico que deben ser incluidos dentro de un manejo integrado para regular las poblaciones de plagas debajo del umbral económico (Cole *et al.*, 2018; Reeves *et al.*, 2019).

El follaje de las plantas representa un hábitat clave para la infección de larvas de cogollero, pero es también donde los OBs del virus son más susceptibles a la temperatura y radiación UV. Estos factores reducen la persistencia del virus y la capacidad de los OBs para causar infección en un periodo de tiempo corto (Hajek y Shapiro, 2017). Esto puede ser una de las causas principales de la ausencia de NPVs en suelos agrícolas colectados en la zona norte del estado de Sinaloa. Muestreos realizados por García-Gutiérrez *et al.* (2013) en el 2010 y 2011 en la misma zona, encontraron larvas infectadas de *S. frugiperda* con SfMNPV. En contraste, muestreos realizados durante el 2016 y 2017 en la misma zona reportaron la ausencia de larvas infectadas con el virus. En los años 2010 y 2011 se registraron temperaturas promedio máximas de 32.5 y 32.8 °C respectivamente, mientras que en 2016 y 2017 las temperaturas registradas fueron de 33.9 y 34.3 °C respectivamente (CONAGUA, 2018). Aunque no tenemos datos de radiación UV en 2010-2011, podría ser que estos eran menores en esos años. El incremento de las temperaturas y de la radiación UV en el norte de Sinaloa en un periodo relativamente corto, pueden ser factores que afectan la persistencia de los OBs en las plantas y el suelo de cultivos de maíz.

La información generada sobre baculovirus en el norte de Sinaloa indica que el mejor momento para buscar virus entomopatógenos sería el ciclo otoño-

invierno, preferentemente en los meses de diciembre y enero. En esta época existen las condiciones ambientales más favorables para la proliferación de estos entomopatógenos en cultivos de maíz en Sinaloa. Adicionalmente, esta época también se propone como la más adecuada para aplicar bioinsecticidas comerciales a base de virus en la región.

En conclusión, este trabajo ha contribuido a plantear estrategias sustentables de biocontrol de plagas, siendo el primer paso el conocer y determinar la presencia de especies parasitoides, y entomopatógenos en la zona, así como evaluar sus capacidades plaguicidas y los factores que los afectan en condiciones experimentales y de campo (Barratt *et al.*, 2017). Las principales características que deben tener los controladores biológicos para ser candidatos como agentes de biocontrol son: (i) que sean de fácil y económica reproducción en salas de crías, (ii) eficaces (que mantengas las plagas por debajo del umbral económico), (iii) específicos contra insectos plaga (no generalista), (iv) que se adapten a las diversas condiciones climáticas y edáficas, y (v) que sean capaces de reproducirse en campo (Kenis *et al.*, 2019). Esta información servirá como referencia a futuras investigaciones enfocadas en este tipo de controladores biológicos de *S. frugiperda* como es el caso de los parasitoides y virus entomopatógenos, con la finalidad de proponer e implementar estrategias sustentables que no dañen el ambiente.

REFERENCIAS

- Bahena, J. F. 2008. Enemigos Naturales de las Plagas Agrícolas. Del maíz y otros cultivos. Libro Técnico Núm. 5. SAGARPA – INIFAP. Uruapan, Michoacán, México. 180 p.
- Barratt, B., V., Moran., F. Bigler, y J. van-Lenteren. 2017. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *BioControl*. 63: 155–167.
- Blair, A., B. Ritz., C. Wesseling, y L. Freeman. 2014. Pesticides. *Occupational and Environmental Medicine*. Month. Pesticides and human health. 1-4.
- Cole, M., M. Augustin., M. Robertson, y J. Manners. 2018. The science of food security. *Science of Food*. Nature. 2: 2-8.
- CONAGUA. 2018. Comisión Nacional del agua. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturasylluvias/resumen-es-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>. Consultado el 13 septiembre 2019.
- Cui, X., Y. Zhang., J. Gao., F. Peng, y P. Gao. 2018. Long-term combined application of manure and chemical fertilizer sustained higher nutrient status and rhizospheric bacterial diversity in reddish paddy soil of central South China. *Scientific reports*. 1-16.
- Dahab, A., M. Jallo, y M. Albaho. 2017. Environmental and Human Health Impacts of Pesticides Use in Agriculture. *Pesticides*. 1-16.
- Fuxa, J. y Richter, A. 2001. Quantification of soil-to-plant transport of recombinant nucleopolyhedrovirus: effects of soil type and moisture, air currents, and precipitation. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 5166–5170.

- García-Gutiérrez, C. y Rodríguez-Meza, G. 2012. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*. 8: 1-10.
- García-Gutiérrez, C., C. M. Escobedo-Bonilla, and M. A. López. 2013. Infectivity of a Sinaloa native isolate of multicapsid nuclear polyhedrosis virus (*SfMNPV*) against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Southwestern Entomologist*. 38: 597-604.
- Goergen, G., P. Kumar, P., S. Sankung S., A. Togola y M. Tamó. 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. *PloS one*. 11: 1-9.
- Gutiérrez-Ramírez, A., A. Robles-Bermúdez., C. Santillán-Ortega., M. Ortiz-Catón, y O. Cambero-Campos. 2012. Biological control as a tool in sustainable pest management and its use in the state of Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias*. 2: 102-112.
- Hajek, E. y Shapiro, D. 2017. *Ecology of Invertebrate Diseases*. Wiley. New Jersey, Estados Unidos de América. 646 p.
- Hendgen, M., B. Hoppe., J. Döring., M. Friedel., R. Kauer., M. Frisch., A. Dahl, y H. Kellner. 2018. Effects of different management regimes on microbial biodiversity in vineyard soils. *Scientific reports*. 1-18.
- Hochberg, M.E., 1989. The potential role of pathogens in biological control. *Nature* 337: 262–265.
- Jones, K., G. Moawad, D. Mckinley, y D. Grzywacz. 1993. The effect of natural sunlight on *Spodoptera littoralis* nuclear polyhedrosis virus. *Biocontrol Science and Technology*. 3. 189–197.
- Kenis, M., B. Hurley., F. Colombari., S. Lawson., J. Sun., C. Wilcken., R., Weeks, y S. Sathyapala. 2019. Guide to the classical biological control of insect

pests in planted and natural forests. FAO Forestry Paper No. 182. Rome, FAO. 113 p.

Leyva-Morales, J., L. García-de la Parra., P. Bastidas-Bastidas., J. Astorga-Rodríguez., J. Bejarano-Trujillo., A., Cruz-Hernández., I. Martínez-Rodríguez y M. Betancourt-Lozano. 2014. Uso de plaguicidas en un valle agrícola tecnificado en el Noroeste de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 30 (3): 247-261.

Mahmood, I., S. Ruqia., K. Shazadi., A. Gul, y K. Rehman. 2016. Effects of pesticides on environment. *Plant, Soil and Microbes*. Springer. 253-269.

Massah, J. y B. Azadegan. 2016. Effect of chemical fertilizers on soil compaction and degradation. *Agricultural mechanization in Asia, Africa, and Latin America*. 47: 44-50.

Matías, R. y Barbona, E. 2017. Manual de seguro y responsable de agroquímicos en cultivos frutihortícolas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. pp.1-50.

Mehrvar, A. 2009. Persistence of Different geographical isolates of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus in two types of soils under different conditions. *Journal of Biological Sciences*. 9: 264-267.

Mesnager, R. y Seralini, G. 2018. Toxicity of pesticides on health and environmental. *Frontiers in Public Health*. 1-12.

Murillo, R., D. Muñoz., M. Ruíz-Portero., M. D. Alcázar., J.E. Belda; T. Williams, y P. Caballero. 2007. Abundance and genetic structure of nucleopolyhedrovirus populations in greenhouse substrate reservoirs. *Biological Control*. Elsevier. 42: 216-225.

Reeves, W., M. McGuire., M. Stokes, y J. Vicini. 2019. Assessing the Safety of Pesticides in Food: How Current Regulations Protect Human Health. *Pesticides in food and human health*. 10: 80-88.

- Rodríguez, D., y B. Arredondo. 2012. Teoría y aplicación del control biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. 2-67
- Sauceda-Acosta, C., J. Quintana-Quiroz., G. Lugo-García., R. Saucedo-Acosta., A. Borbón-Gracia., B. Sánchez-Soto y P. Casillas-Álvarez. 2015. Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz de primavera, en Guasave, Sinaloa. Entomología Mexicana. 2: 404-410.
- Vargas-Trejo, Y. y W. Coto-Cedeño. 2016. Alimentos con sabor a agroquímicos. Contaminación agrotóxica de alimentos y sus efectos en la salud de la población costarricense, 1950-2015. 23: 1-16.
- Young, S. 2001. Persistence of virus in the environment. En: Baur, M.E., Fuxa, J.R., (Eds.). Factors affecting the survival of entomopathogens. Southern Cooperative Series Bulletin. Estados Unidos de América. pp. 201-265.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

Los parasitoides encontrados en este estudio concuerdan con lo reportado anteriormente por diversos autores para esta zona, a excepción de los porcentajes de parasitismo encontrados. Se concluye que las poblaciones naturales de parasitoides varían en abundancia de acuerdo a las épocas del cultivo, pero continúan controlando con diferente eficacia a las poblaciones de gusano cogollero en campo en forma suficiente, es necesario realizar la cría de uno o algunos de ellos para evaluar la factibilidad de su reproducción y eficacia en campo, dentro de un manejo integrado de esta plaga.

La mayor proporción de los parasitoides se encontró en maíz voluntario respecto a maíz cultivado. Es necesario realizar estudios adicionales para incluir índices ecológicos como la abundancia, diversidad y equitatividad de especies parasitoides entre los años de muestreo y los tipos de cultivo.

Se logró obtener una cría de *S. frugiperda* bajo condiciones controladas de laboratorio y alimentadas con una dieta artificial. Con estas larvas se realizaron los bioensayos de persistencia del virus en suelos agrícolas.

No se logró encontrar el nucleopoliedrovirus SfMNPV en larvas de *S. frugiperda* en dos años consecutivos de colecta de larvas del gusano cogollero en cultivo de maíz. Se recomienda realizar muestreos más amplios de larvas de *S. frugiperda*, con el fin de aumentar las probabilidades de encontrar NPVs en larvas de este insecto.

La persistencia de virus en suelos agrícolas colectados en la región fue mayor en suelos con pH entre 7 (suelo arenoso) y 7.5 (suelo limoso), y menor en suelos con pH 8 (suelo arcilloso). Así mismo, se observó una mayor persistencia del virus bajo condiciones controladas (>75%) comparado con las condiciones de malla sombra (>56%). En las condiciones naturales se registró la menor persistencia del virus (<36%). Siendo la radiación solar, luz UV y temperatura los factores que más influyeron en la persistencia viral.

En el segundo bioensayo, en suelos arcillosos, las mortalidades de las larvas presentaron una tendencia similar al bioensayo anterior. Los suelos arcillosos con pH 7.1 y 7.5 fueron los que presentaron una mayor persistencia del virus a través del tiempo (4 meses), y los suelos arcillosos con pH 8, presentaron menor persistencia. Así mismo, se observó una mayor persistencia bajo condiciones controladas (>99%), comparado con malla sombra (>72%) y las condiciones naturales (<57%).

Es necesario realizar estudios más detallados, que puedan ayudar a entender que otros factores del suelo y ambientales podrían influir en la infectividad/persistencia de OBs y su flujo desde el suelo hacia las hojas de maíz donde ocurre la infección de larvas de *S. frugiperda*.

Así mismo, se recomienda realizar bioensayos de persistencia de OBs en suelo durante las épocas de otoño-invierno y primavera-verano con la finalidad de determinar cuales de las condiciones ambientales presentes durante esas estaciones del año favorecen la persistencia de los OBs.

CURRICULUM VITAE

Miguel Ángel López nació en Guasave, Sinaloa, México el 4 de Julio de 1986, el realizó una Licenciatura Agronómica, con especialidad en parasitología en la Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte perteneciente a la Universidad Autónoma de Sinaloa durante el 2004 al 2009.

En el 2009 realizó una tesis de licenciatura que lleva por nombre: "Cría masiva del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith, 1797) en el norte de Sinaloa".

Durante el 2010 al 2012, realizó una Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Centro Interdisciplinario Institucional para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR- Unidad Sinaloa) perteneciente al Instituto Politécnico Nacional, donde se realizó una tesis titulada: Patogenicidad y Virulencia de los Virus de la Poliedrosis Nuclear (*SfMNPV* y *HsSNPV*) en el control del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith) y gusano elotero del maíz *Helicoverpa zea* (Boddie) en Guasave, Sinaloa".

En el 2013, trabajó como profesional fitosanitario del CESAVESIN en huertas comerciales de limón persa en el estado de Sinaloa.

Durante el 2014 y 2015 se desempeñó como docente en las asignaturas de Química y Biología en la Preparatoria Guasave Diurna de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Del 2015 al 2019 realizó un Doctorado en Ciencias de Biotecnología en CIIDIR- Unidad Sinaloa, IPN, donde se realizó una tesis titulada: Parasitismo Natural y Evaluación de la Persistencia del Nucleopoliedrovirus (*SfMNPV*) del Gusano Cogollero *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) en Suelos del Norte de Sinaloa.

PUBLICACIONES

1. Persistence of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) in different agricultural soils from northern Sinaloa. En preparación.
2. Parasitoids and Entomopathogens Associated with Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Northern Sinaloa. Publicado en 2018 en la revista *Southwestern Entomologist*.
3. Infectivity of a Sinaloa native isolate of multicapsid nuclear polyhedrosis virus (SfMNPV) against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), publicado en 2013 en la revista *Southwestern Entomologist*.

PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS

- VII Encuentro Nacional de Biotecnología del IPN. 2010. Mazatlán, Sinaloa, México.
- XLVII Congreso Nacional de Entomología. 2012. Puebla, Puebla, 2012.
- VIII Encuentro Nacional de Biotecnología del IPN. 2012. Durango, Durango, México.

PONENCIAS

- 15ª Semana Nacional de Ciencia y Tecnología de la UAS y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 2013. Guasave, Sinaloa, México.
- “Identificación y manejo de plagas y contaminantes biológicos en granos almacenados”. 2008, Guasave, Sinaloa, México.